

09/806925

JC08 Rec'd PCT/PTO 06 APR 2001¹

Translation of an Amendment (under PCT Article 34)

Date of receipt 21.9.00

1. International Application No.
PCT/JP99/05583

2. Applicant

Name: Mitsui Sugar Co., Ltd

Address : 8-2, Nihonbachi Honcho 2-chome, Chuo-ku, Tokyo
103-8423 Japan

Nationality : Japan

3. Agent

Name: Mitsuo Matsui, patent attorney(8554)

Address : 3F, Nishishinbashi YS Bldg., 19-2,
Nishishinbashi 2-chome, Minato-ku, Tokyo
105-0003 Japan

4. Date of Opinion (PCT Rule 66)
01.08.00

5. Object to be amended
Claim 1

6. Attachment
The claims on page 47 of the specification

NOT ENTERED

Claims:

1. (after amended) A preventive or remedy for infection for man or animals comprising a sugar cane-derived extract as an active ingredient.
2. The preventive or remedy according to claim 1, wherein the sugar cane-derived extract is a fraction obtained by treating a raw material selected from the group consisting of sugar cane juice, a liquid extract from sugar cane, and sugar cane-derived molasses, in column chromatography with a fixed carrier.
3. The preventive or remedy according to claim 2, wherein the sugar cane-derived extract is a fraction obtained by passing the raw material selected from the group consisting of sugar cane juice, a liquid extract from sugar cane, and sugar cane-derived molasses, through a column packed with a synthetic adsorbent as the fixed carrier and eluting substances adsorbed on the synthetic adsorbent with a solvent selected from the group consisting of water, methanol, ethanol or a mixture thereof.
4. The preventive or remedy according to claim 2, wherein the sugar cane-derived extract is a fraction which absorbs light of a wave length of 420nm out of fractions obtained by column chromatographic treatment utilizing differences in affinity to an ion exchange resin packed in a column as the fixed carrier.
5. The preventive or remedy according to claim 4, wherein the ion exchange resin is a cation exchange resin.
6. The preventive or remedy according to claim 5, wherein the cation exchange resin is a strongly acidic cation exchange resin.
7. The preventive or remedy according to claim 6, wherein the strongly acidic cation exchange resin is of a sodium ion form or a potassium ion form.
8. The preventive or remedy according to any one of claims 4 to 7, wherein the ion exchange resin is a gel form resin.
9. The preventive or remedy according to any one of claims 4

to 8, wherein ion exchange chromatographic treatment is carried out in a pseudo moving-bed continuous separation method.

10. The preventive or remedy according to any one of claims 4 to 9, wherein the fraction absorbing light of a wave length of 420nm is further treated by electrodialysis to thereby decrease amounts of salts.
11. The preventive or remedy according to claim 1, wherein the sugar cane-derived extract is obtained by extracting bagasse with water, a hydrophilic solvent or a mixture thereof.
12. The preventive or remedy according to claim 11, wherein the hydrophilic solvent is ethanol.

JC08 Rec'd PCT/PTO 06 APR 2001

Translation of an Amendment (under PCT Article 34)

Date of receipt 02.5.00

1. International Application No.

PCT/JP99/05583

2. Applicant

Name: Mitsui Sugar Co., Ltd

Address : 8-2, Nihonbachi Honcho 2-chome, Chuo-ku, Tokyo
103-8423 Japan

Nationality : Japan

3. Agent

Name: Mitsuo Matsui, patent attorney (8554)

Address : 3F, Nishishinbashi YS Bldg., 19-2,
Nishishinbashi 2-chome, Minato-ku, Tokyo
105-0003 Japan

4. Objects to be amended

(1) Specification

(2) Claims

5. Contents of amendment

- (1) In the specification, page 1, line 3, the terms "vaccine vaccine adjuvant" are corrected to "vaccine adjuvant."
- (2) In the specification, page 6, line 24, the terms "vaccine vaccine adjuvant" is corrected to "vaccine adjuvant."
- (3) In claim 16, the terms "vaccine vaccine adjuvant" are corrected to "vaccine adjuvant."
- (4) In claim 17, the terms "vaccine vaccine adjuvant" are corrected to "vaccine adjuvant."
- (5) In claim 18, the terms "vaccine vaccine adjuvant" are corrected to "vaccine adjuvant."
- (6) In claim 19, the terms "vaccine vaccine adjuvant" are corrected to "vaccine adjuvant."
- (7) In claim 20, the terms "vaccine vaccine adjuvant" are corrected to "vaccine adjuvant."
- (8) In claim 21, the terms "vaccine vaccine adjuvant" are corrected to "vaccine adjuvant."
- (9) In claim 22, the terms "vaccine vaccine adjuvant" are corrected to "vaccine adjuvant."

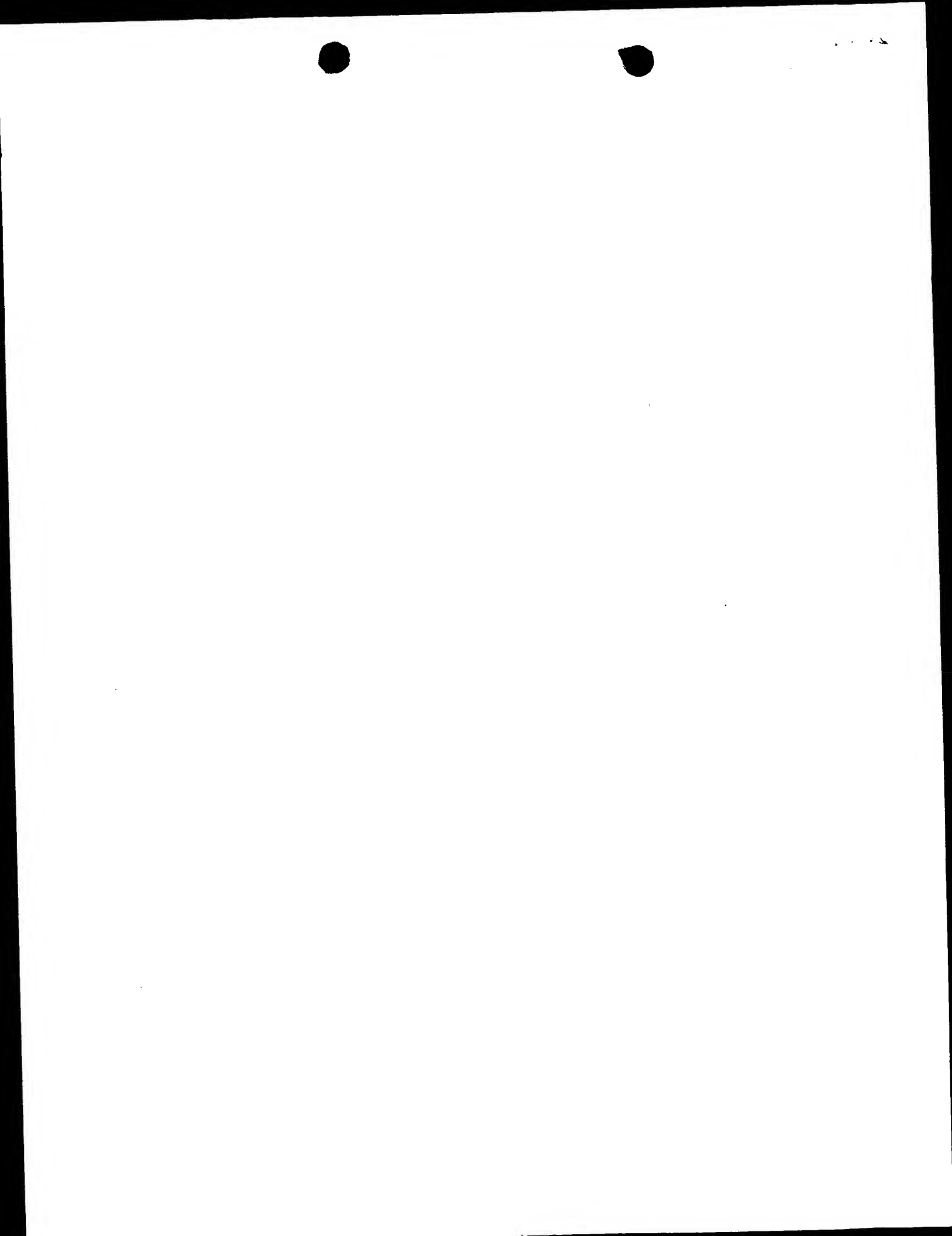
SP-1

100-100000

- (10) In claim 23, the terms "vaccine vaccine adjuvant" are corrected to "vaccine adjuvant."
- (11) In claim 24, the terms "vaccine vaccine adjuvant" are corrected to "vaccine adjuvant."
- (12) In claim 25, the terms "vaccine vaccine adjuvant" are corrected to "vaccine adjuvant."
- (13) In claim 26, the terms "vaccine vaccine adjuvant" are corrected to "vaccine adjuvant."
- (14) In claim 27, the terms "vaccine vaccine adjuvant" are corrected to "vaccine adjuvant."
- (15) In claim 28, the terms "vaccine vaccine adjuvant" are corrected to "vaccine adjuvant."
- (16) In claim 29, the terms "vaccine vaccine adjuvant" are corrected to "vaccine adjuvant."
- (17) In claim 30, the terms "vaccine vaccine adjuvant" are corrected to "vaccine adjuvant."

6. Attachments

- (1) Pages 1 and 6 of the specification
- (2) The claims on pages 48 and 49



RECEIVED

AUG 03 2001

TECH CENTER 1600/2900

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

| | | |
|--|---|--|
| Applicant's or agent's file reference | FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416) | |
| International application No. PCT/JP99/05583 | International filing date (day/month/year) 08 October 1999 (08.10.99) | Priority date (day/month/year) 09 October 1998 (09.10.98) |
| International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A61K 35/78, 39/39, A23L 1/214, 1/30, A23K 1/16 | | |
| Applicant MITSUI SUGAR CO., LTD | | |

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2. This REPORT consists of a total of 5 sheets, including this cover sheet.
- ☒ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).
- These annexes consist of a total of 5 sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☒ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☒ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

| | |
|--|---|
| Date of submission of the demand 02 May 2000 (02.05.00) | Date of completion of this report 04 January 2001 (04.01.2001) |
| Name and mailing address of the IPEA/JP | Authorized officer |
| Facsimile No. | Telephone No. |

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP99/05583

I. Basis of the report

1. With regard to the **elements** of the international application:*

- ☐ the international application as originally filed
- ☒ the description:
 pages _____ 2-5,7-46 _____, as originally filed
 pages _____ 1,6 _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____
- ☒ the claims:
 pages _____ 2-15,31-60 _____, as originally filed
 pages _____, as amended (together with any statement under Article 19
 pages _____ 16-30 _____, filed with the demand
 pages _____ 1 _____, filed with the letter of _____ 21 September 2000 (21.09.2000)
- ☒ the drawings:
 pages _____ 1-6 _____, as originally filed
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the sequence listing part of the description:
 pages _____, as originally filed
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the **language**, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.
 These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:
☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
☐ filed together with the international application in computer readable form.
☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

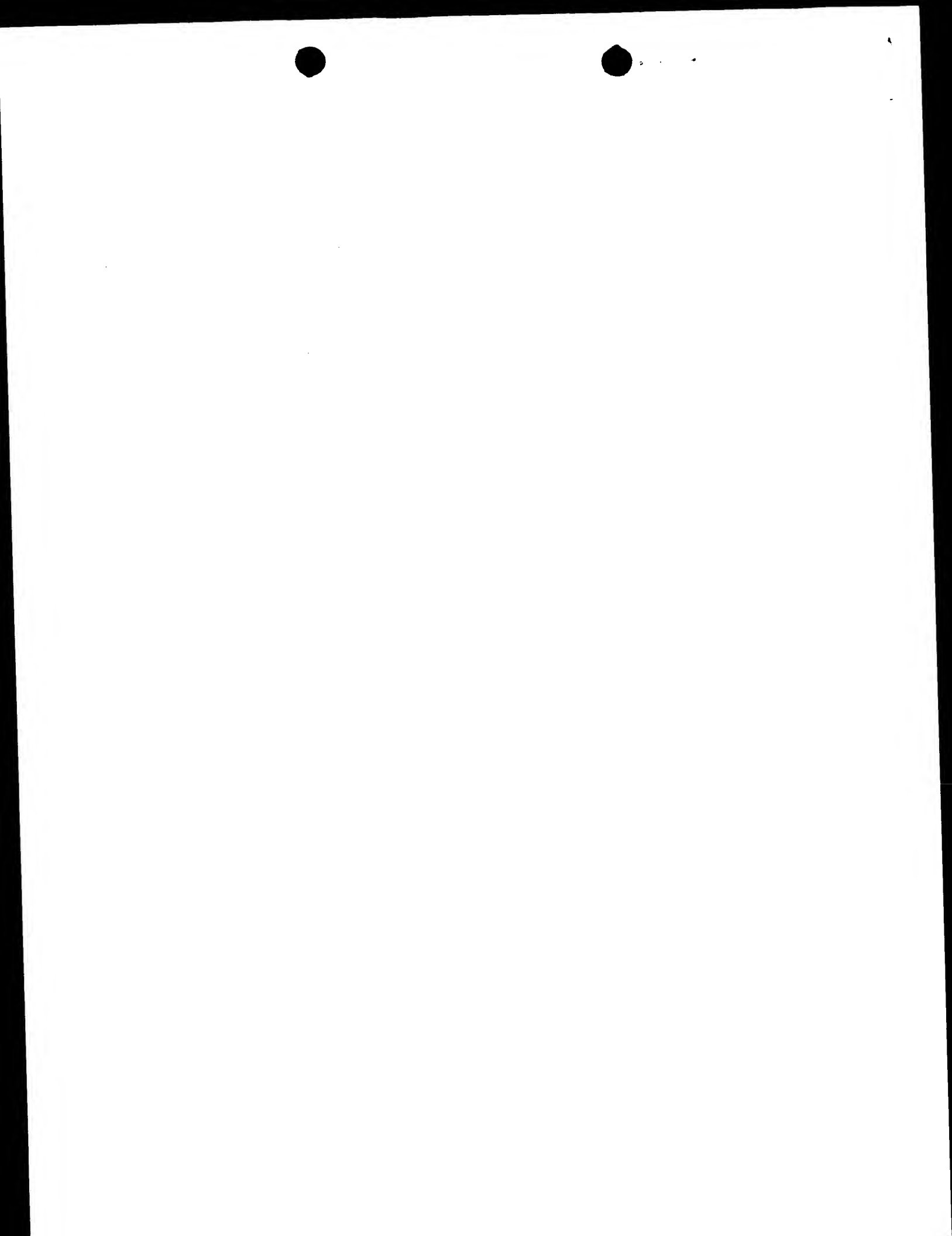
4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
☐ the claims, Nos. _____
☐ the drawings, sheets/fig _____

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP99/05583

IV. Lack of unity of invention

1. In response to the invitation to restrict or pay additional fees the applicant has:

- ☐ restricted the claims.
- ☐ paid additional fees.
- ☐ paid additional fees under protest.
- ☐ neither restricted nor paid additional fees.

2. ☒ This Authority found that the requirement of unity of invention is not complied with and chose, according to Rule 68.1, not to invite the applicant to restrict or pay additional fees.

3. This Authority considers that the requirement of unity of invention in accordance with Rules 13.1, 13.2 and 13.3 is

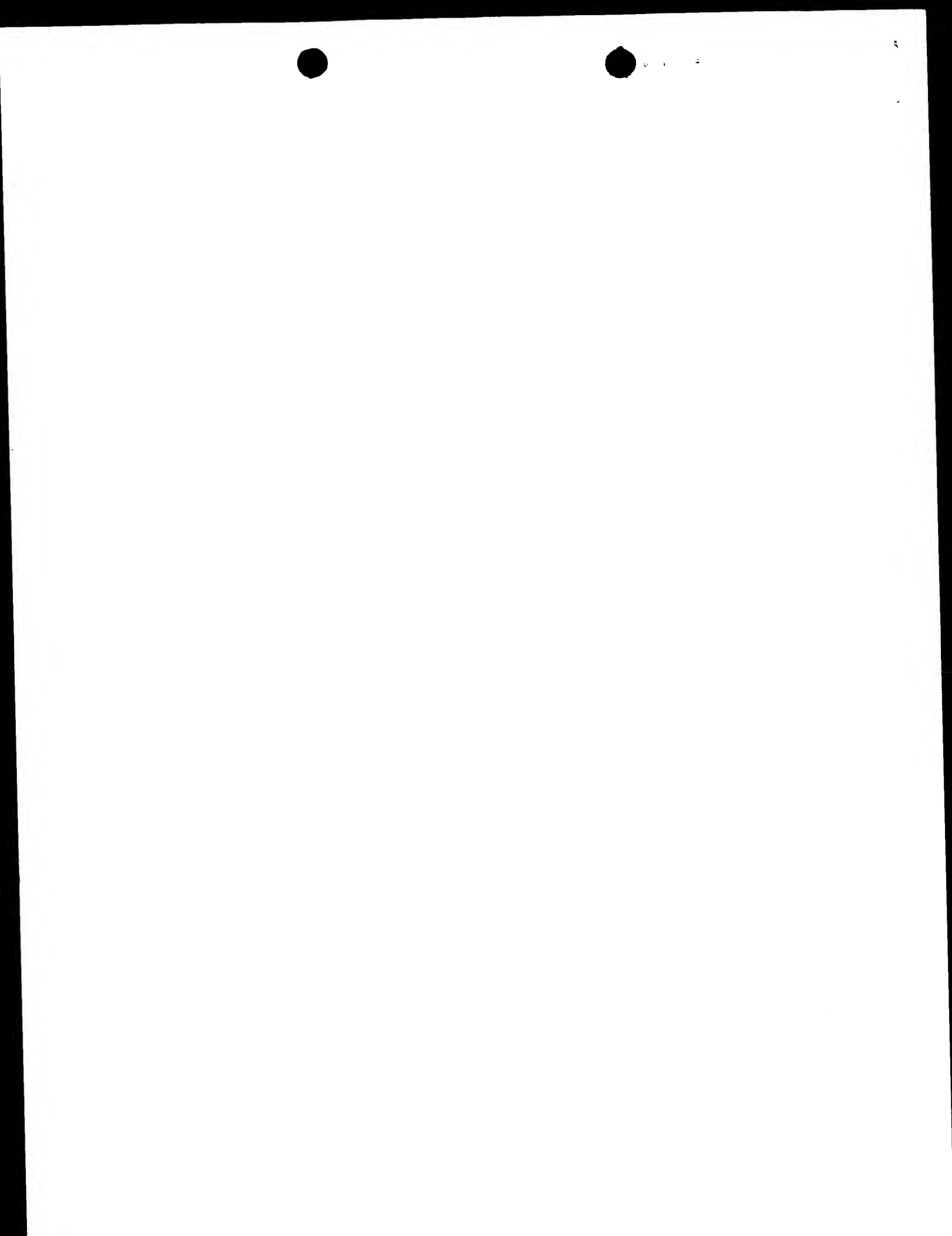
- ☐ complied with.
- ☒ not complied with for the following reasons:

Claims 16-30 describe an invention concerning the application of the extract derived from sugar cane for vaccine adjuvants, and claims 31-45 describe an invention concerning the application of the extract for anti-endotoxin agents. Furthermore, claims 46-60 describe an invention concerning the application of the extract for growth promoters.

However, claims 1-15 describe an invention concerning the application of the extract derived from sugar cane for infection preventives and remedies. So, it cannot be considered that these four inventions concerning applications are linked so as to form a single general inventive concept.

4. Consequently, the following parts of the international application were the subject of international preliminary examination in establishing this report:

- ☒ all parts.
- ☐ the parts relating to claims Nos. _____



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP99/05583

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)

Claims

1-60

YES

Claims

NO

Inventive step (IS)

Claims

1-60

YES

Claims

NO

Industrial applicability (IA)

Claims

1-60

YES

Claims

NO

2. Citations and explanations

The following document 1 cited in the ISR describes that the waste molasses of sugar cane have an antiviral effect against plant viruses, but does not describe that the extract derived from sugar cane described in claim 1 is an infection preventive or remedy for humans or animals. Furthermore, since the action mechanism of phylaxis in humans or animals is quite different from that in plants, it cannot be considered that the technique of document 1 described to be effective for plant viruses can be adopted in the subject matter of claim 1. So, the subject matters of claims 1-60 are neither described in document 1 nor obvious to a person skilled in the art from the description therein.

The subject matters of claims 1-60 appear to be industrially applicable.

Document 1: JP, 60-54305, A

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP99/05583

VI. Certain documents cited

1. Certain published documents (Rule 70.10)

| Application No. Patent No. | Publication date (day/month/year) | Filing date (day/month/year) | Priority date (valid claim) (day/month/year) |
|-------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------|---|
| JP,11-98971,A | 13 April 1999 (13.04.1999) | 26 September 1997 (26.09.1997) | |

2. Non-written disclosures (Rule 70.9)

| Kind of non-written disclosure | Date of non-written disclosure (day/month/year) | Date of written disclosure referring to non-written disclosure (day/month/year) |
|--------------------------------|--|---|
| | | |

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Assistant Commissioner for Patents
United States Patent and Trademark
Office
Box PCT
Washington, D.C.20231
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

| | |
|--|--|
| Date of mailing (day/month/year) 24 May 2000 (24.05.00) | |
| International application No. PCT/JP99/05583 | Applicant's or agent's file reference |
| International filing date (day/month/year) 08 October 1999 (08.10.99) | Priority date (day/month/year) 09 October 1998 (09.10.98) |
| Applicant MIZUTANI, Takeo et al | |

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

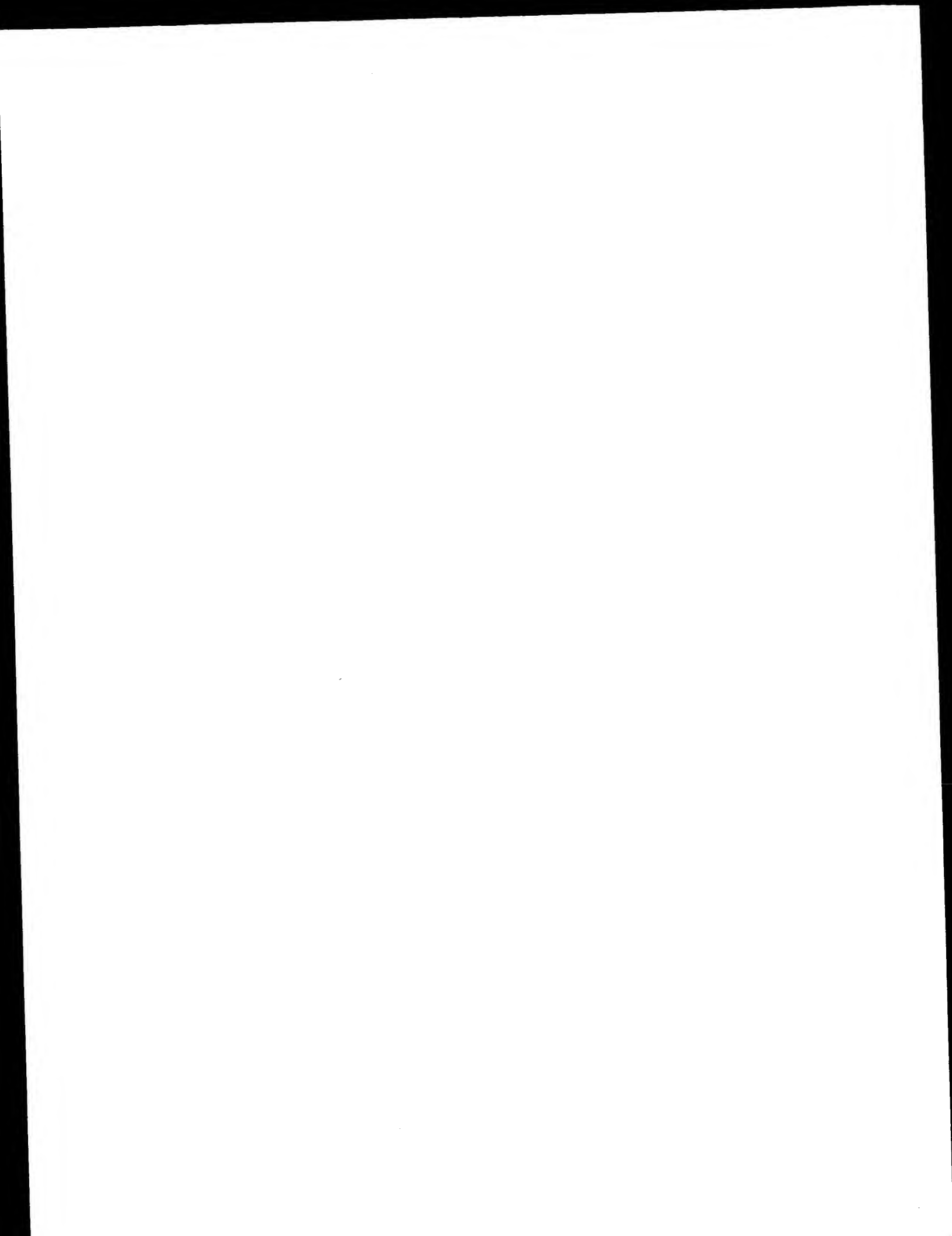
☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:
02 May 2000 (02.05.00)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was
☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

| | |
|---|----------------------------------|
| The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland | Authorized officer R. Forax |
| Facsimile No.: (41-22) 740.14.35 | Telephone No.: (41-22) 338.83.38 |





PATENT COOPERATION TREATY

PCT

From the INTERNATIONAL BUREAU

NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

To:

MATSUI, Mitsuo
Nishishinbashi YS Building
3rd floor
19-2, Nishishinbashi 2-chome
Minato-ku
Tokyo 105-0003
JAPON

| | |
|--|--|
| Date of mailing (day/month/year) 15 May 2000 (15.05.00) | IMPORTANT NOTIFICATION |
| Applicant's or agent's file reference | |
| International application No. PCT/JP99/05583 | International filing date (day/month/year) 08 October 1999 (08.10.99) |

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant ☐ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative

Name and Address

EISAI CO., LTD.
6-10, Koishikawa 4-chome
Bunkyo-ku
Tokyo 112-8088
Japan

State of Nationality

JP

State of Residence

JP

Telephone No.

Facsimile No.

Teleprinter No.

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☒ the person ☐ the name ☐ the address ☐ the nationality ☐ the residence

Name and Address

State of Nationality

State of Residence

Telephone No.

Facsimile No.

Teleprinter No.

3. Further observations, if necessary:

The applicant identified in Box 1 should be deleted as an applicant of record.

Assignment

4. A copy of this notification has been sent to:

☒ the receiving Office ☒ the designated Offices concerned
☐ the International Searching Authority ☐ the elected Offices concerned
☐ the International Preliminary Examining Authority ☐ other:

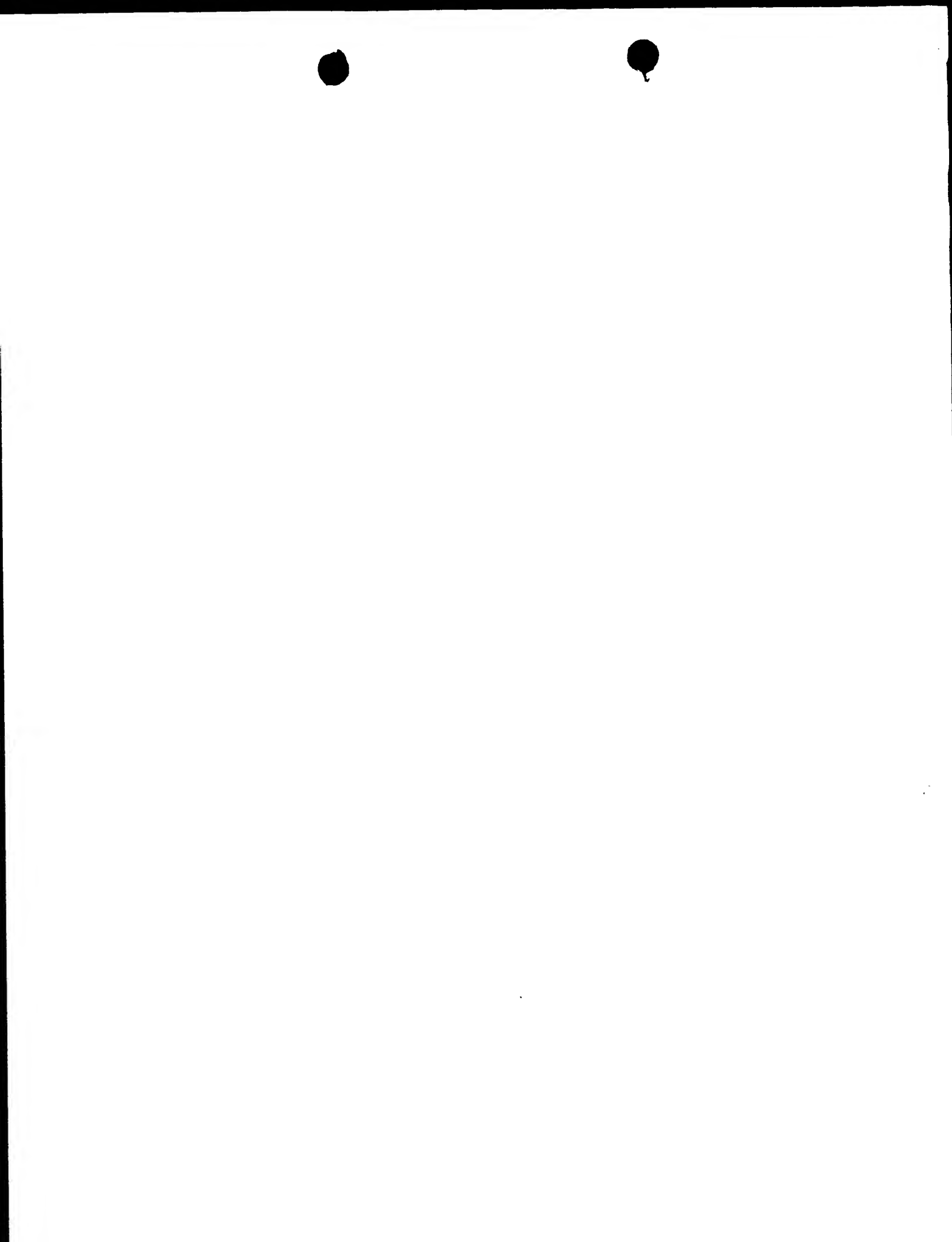
The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Authorized officer

Susumu Kuba

Telephone No.: (41-22) 338.83.38



国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)
[PCT18条、PCT規則43、44]

| | | |
|--------------------------|---|-------------------------|
| 出願人又は代理人 の書類記号 | 今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220) 及び下記5を参照すること。 | |
| 国際出願番号 PCT/JP99/05583 | 国際出願日 (日.月.年) 08.10.99 | 優先日 (日.月.年) 09.10.98 |
| 出願人(氏名又は名称) 三井製糖株式会社 | | |

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 2 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。

☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。

☐ この国際出願に含まれる書面による配列表

☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

3. ☐ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。
☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。
☐ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

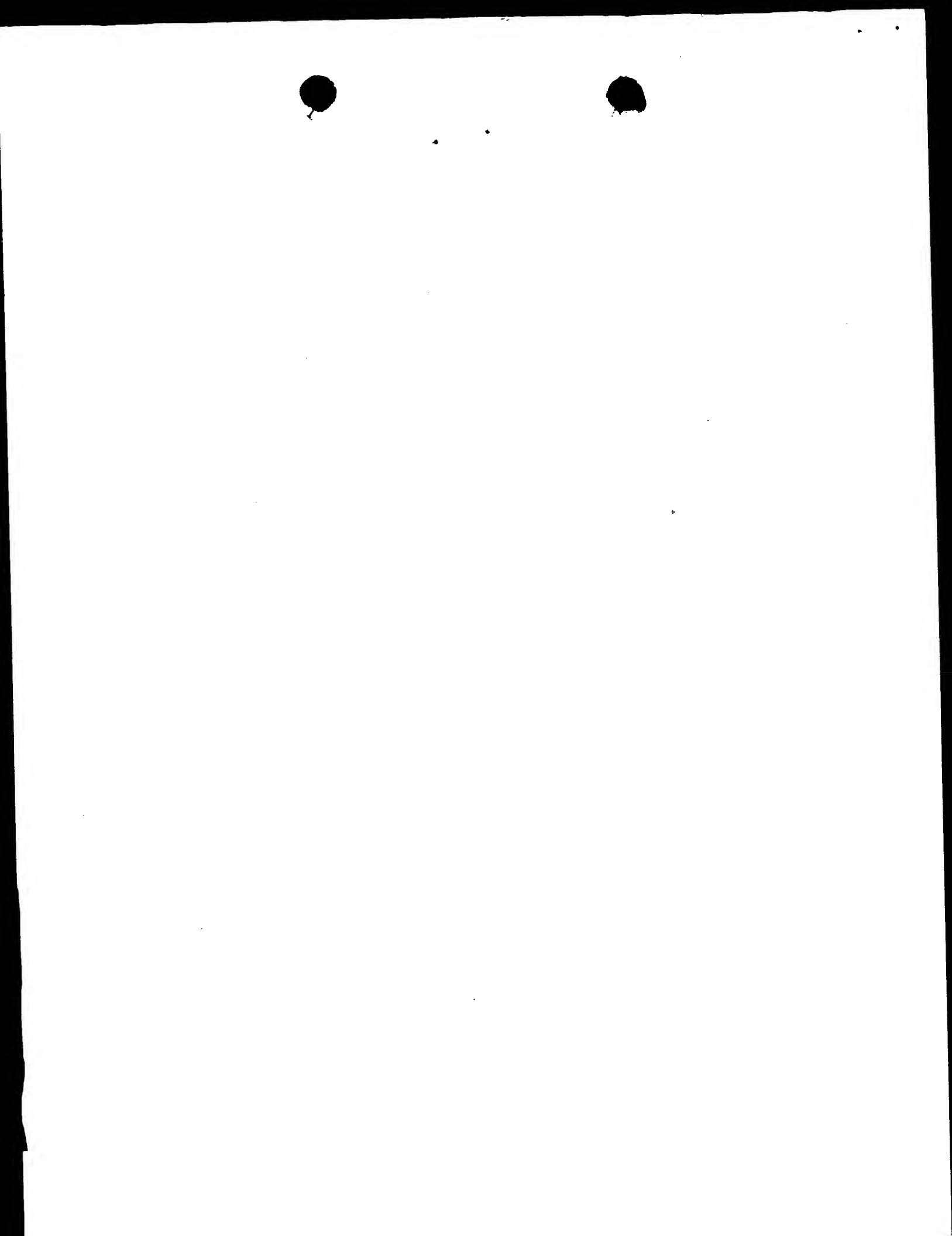
6. 要約書とともに公表される図は、

第 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。

☒ なし

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。



A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) .

Int. Cl⁷ A61K35/78, 39/39, A23L1/214, 1/30, A23K1/16

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61K35/78, 39/39, A23L1/214, 1/30, A23K1/16

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN), MEDLINE (STN), BIOSIS (DIALOG)

C. 関連すると認められる文献

| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
|-----------------|---|--------------------|
| X Y A | JP, 57-106624, A (野田食菌工業株式会社) 2. 7月. 1982 (02. 07. 82) ファミリーなし | 1 2-15 16-60 |
| P, X | JP, 11-98971, A (日新製糖株式会社) 13. 4月. 1999 (13. 04. 99) ファミリーなし | 1 |

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

27. 12. 99

国際調査報告の発送日

11.01.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

鶴見 秀紀

4C

8415

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

(54) ANTIVIRAL AGENT

(11) 57-106624 (A)

(43) 2.7.1982 (19) JP

(21) Appl. No. 55-184368

(22) 22.12.1980

(71) NODA SHIYOTSUKIN KOGYO K.K. (72) CHIYOKICHI IIZUKA(1)

(51) Int. Cl. A61K35/78

PURPOSE: To prepare a low-toxic antiviral agent effective to viral diseases such as influenza, hepatitis, etc., by using polysaccharides and water-soluble lignin obtained from true grasses such as bagasse, as active components.

CONSTITUTION: The objective agent contains, as active components, polysaccharides and water-soluble lignin extracted from true grasses (e.g. bagasse, corn, rice straw, wheat straw, bamboo, etc.), esp. bagasse. The extraction of the active components can be carried out by boiling or enzymatic treatment, and the latter method is preferable for industrial use. Since the polysaccharides and the water-soluble lignin existing in bagasse etc. have antiviral effect irrespective of the presence of mycelia, it is not necessary to culture the mycelia particularly, and the agent can be prepared quite easily at a low cost.

(54) CYTOTOXIC PROTEIN COMPLEX AND ITS PREPARATION

(11) 57-106625 (A)

(43) 2.7.1982 (19) JP

(21) Appl. No. 55-180552

(22) 22.12.1980

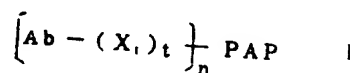
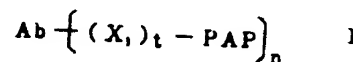
(71) TEIJIN K.K. (72) YASUHIKO MASUYASU(2)

(51) Int. Cl. A61K39/395//A61K35/78, A61K37/64

NEW MATERIAL: Cytotoxic protein complex obtained by bonding immunoglobulin capable of specifically bonding to a specific antigen existing in the cell to be killed or a fragment of said immunoglobulin with a protein (PAP) obtained from *Phytolacca americana* and having protein synthesis inhibiting activity, through a covalent bond.

USE: A protein complex having highly selective cytotoxicity.

PROCESS: The objective cytotoxic protein complex [e.g. the compound of formula I or II (Ab is immunoglobulin, etc.; X_t is valent organic group, t is 0 or 1; n is 1~3)] is prepared by crosslinking (A) an immunoglobulin capable of specifically bonding to a specific antigen existing in the cell to be killed (prepared from the antiserum separated from an animal such as human, monkey, etc. immunized with target cells such as tumor cell or specific lymphocyte) or its fragment containing the antigen-bonding site with (B) PAP (protein composed of single polypeptide chain having a molecular weight of 27,000) in the presence of (C) a condensation agent (e.g. DCC) through covalent bond.



(54) CYTOTOXIC PROTEIN COMPLEX AND ITS PREPARATION

(11) 57-106626 (A)

(43) 2.7.1982 (19) JP

(21) Appl. No. 55-180553

(22) 22.12.1980

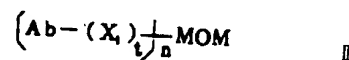
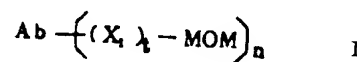
(71) TEIJIN K.K. (72) YASUHIKO MASUYASU(1)

(51) Int. Cl. A61K39/395, A61K39/00

NEW MATERIAL: Cytotoxic protein complex obtained by bonding immunoglobulin capable of specifically bonding to a specific antigen existing in the cell to be killed or a fragment of said immunoglobulin with a protein (MOM) obtained from *Momordica charantia* and having protein synthesis inhibiting activity, through a covalent bond.

USE: A protein complex having highly selective cytotoxicity.

PROCESS: The objective cytotoxic protein complex [e.g. the compound of formula I or II (Ab is immunoglobulin, etc.; X_t is bivalent organic group; t is 0 or 1; n is 1~3)] is prepared by crosslinking (A) an immunoglobulin capable of specifically bonding to a specific antigen existing in the cell to be killed (prepared from the antiserum separated from an animal such as human, monkey, etc. immunized with target cells such as tumor cell or specific lymphocyte) or its fragment containing the antigen-bonding site with (B) MOM (a protein having a molecular weight of 23,000) in the presence of (C) a condensation agent (e.g. DCC) through covalent bond.



⑨ 日本国特許庁 (JP)

⑩ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭57-106624

⑪ Int. Cl.³
A 61 K 35/78

識別記号

庁内整理番号
7138-4C

⑬ 公開 昭和57年(1982)7月2日

発明の数 1
審査請求 有

(全 3 頁)

⑭ 抗ウイルス剤

⑯ 特 願 昭55-184368

⑰ 出 願 昭55(1980)12月24日

⑱ 発 明 者 飯塚千代吉
野田市清水121番地野田食菌工
業株式会社内

⑲ 発 明 者 前田浩明

野田市清水121番地野田食菌工
業株式会社内

⑳ 出 願 人 野田食菌工業株式会社

野田市清水121番地

㉑ 代 理 人 弁理士 和田成則

明 細 書

1. 発明の名称

抗ウイルス剤

2. 特許請求の範囲

(1) 禾本科植物から得られる多糖及び水溶性リグニンを有効成分とする抗ウイルス剤。

(2) 上記禾本科植物がバガスであることを特徴とする特許請求の範囲第1項記載の抗ウイルス剤。

3. 発明の詳細な説明

この発明は砂糖きびの絞りかすであるバガス等禾本科植物に属する植物から得られた多糖及び水溶性リグニンを有効成分とする抗ウイルス剤に関するものである。

ウイルスがろ過性病原体であること、リクツチャより小さく20~60ミリミクロンでウイルス以外の生物に寄生し、生細胞内でのみ増殖することとはよく知られているところであり、またこれが病原体となるものは動物において日本脳炎、インフルエンザ、肝炎等があり、また植物においてはタバコモザイクウイルス(TMV)キヌウリモザ

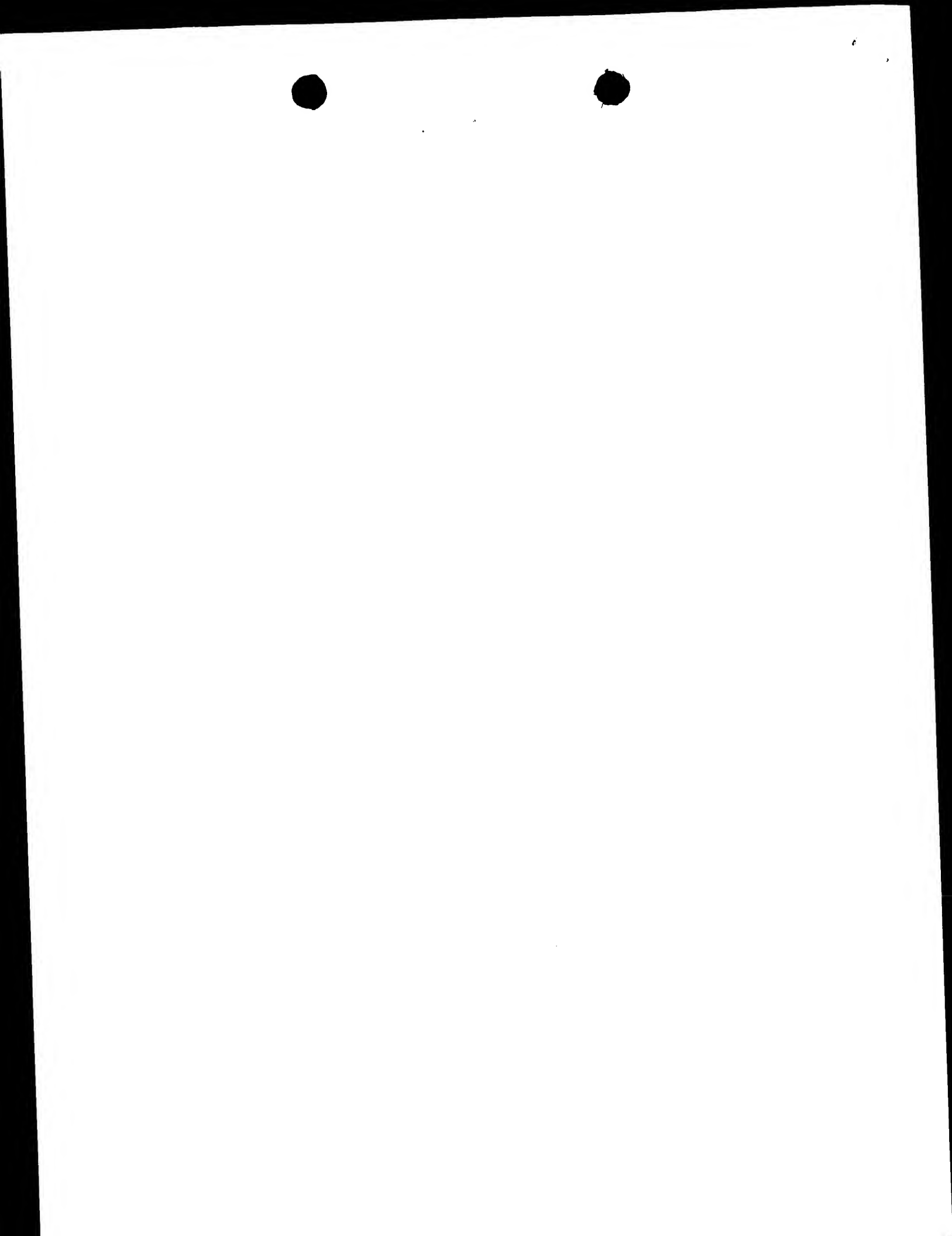
イクウイルス(CMV)等が典型である。

ところで、本発明者は先にバガス等の固体培地又は液体培地に雄蜂などの担子菌を接種し、これら菌糸体と宿主との混合物(菌糸体培養物)から得られる多糖及びサイトカニン系の活性物質を有効成分とする抗ウイルス剤を開発した(特願昭53-162087号)。

すなわち、本発明者は菌糸体中の成分もさることながら、菌糸体の代謝する代謝産物及び菌糸体によるリグニンの部分分解物に注目し、前記の如き発明を完成したものであるが、その後更に前記発明を継続して研究、実験を行なった結果、菌糸体の存在の必要性に拘らず、例えばバガスそれ自体中に含有されている多糖及び水溶性リグニンそれ自身に抗ウイルス効果の有することを知見して本発明を完成したものである。

以下本発明を詳細に説明する。

本発明はバガス、とうもろこし、那わら、発わら、竹等禾本科植物に属する植物から、該植物中に含有されている多糖及び水溶性リグニンを抽出



するものであるが、その抽出手段は特に問わない。
また、前記禾本科植物のうち、バガスを用いるのが最もウイルス活性に於て優れていたが、その他の植物でもウイルス活性を認めることができた。

本発明者は不純成分の油出手段として煮沸法及び酢酸法等を用いたが、後者の方が効率的に剤を得ることができるため工業的に有利であると思われる。

本発明によれば前記の如き発明(特開昭53-162087号)に比し、培養体を特に培養する必要がないため、その製造は極めて簡単で、一層低コストに製造できるため更に一層工業的に有利である。

また、本発明に係る抗ウイルス剤はウイルス性肝炎、インフルエンザ等の動物ウイルス及びタバコモザイクウイルス等の植物ウイルスに対して有効であることが確認され、かつ安試験の結果、超低毒性であることが確認された。因みに凍結乾燥粉末の亜急性試験を行なった結果、経口ラット6 $3.84g/kg/day \times 90$ $9798g/kg/day \times 90$ で

あつた。

以下実施例を説明する。

(実施例1)

バガス1kg当り5Lの水を加え、これに蒸留する0.1~0.5%程度の粗酵素剤を加え、かつPH4.2~6.2の範囲にPHを調整する。その蒸留度を35℃~45℃の範囲内に設定し、該温度範囲内で8~24時間静置反応を生ぜしめ、これによりバガス中の多糖及び水溶性リグニンを水に溶解せしめ、しかる後ろ布で濾過して残渣を除くと共に、更にフィルターにて濾過し微細な残渣を除く。

次にこの水溶液を10%TCA(トリクロール酢酸)等で除蛋白し、これに大過剰の95%エタノールを加え、生ずる沈澱を遠心分離し、これを凍結乾燥等により乾燥せしめて本発明に係る抗ウイルス剤を得る。

尚、前記粗酵素剤は次のような手段により得たものである。

すなわち、シイタケ等の担子菌類を液体培地により培養し、その培養液を乾燥アソモン等で凍

干し、透析した後、凍結乾燥したもので、該粗酵素剤にはセルラーゼ、リグナーゼ、グルカナーゼ、ヤチナーゼ等が含まれている。

更に前記の如くして得られた剤の分離、同定を次のような手段により行なつた。

すなわち、前記の如くして得た凍結乾燥粉末剤を少量の水に溶解し、Sephadex G-25のカラムクロマトグラフィーにかけた。ソルベントは3%エタノールを用いた。

その結果は第1図に示す通りであり、生物検定の結果Aの区分にのみ、抗ウイルス活性を認めた。

次にAの区分を少量の水に溶解し、これをDEAEセルローズカラムクロマトグラフィーにかけた。溶出はPH9.5の炭酸バッファ、NaClのステップワイズ法にて行なつた。その結果は第2図に示す通りであり、生物検定の結果1と3の区分についてのみ抗ウイルス活性を認めた。

次に上記の如くして得られた区分1の物質について、これを実験した結果、モーリッシュ反応④、フェノール硫酸反応④、ニンヒドリン反応④であ

り、紫外線吸収に特性をもたない、分子量10,000~50,000の多糖であることが確認された。

また、区分2の物質についてこれを実験した結果、フェノール硫酸反応④ MAULE反応④の分子量50,000~100,000の水溶性ポリフェノール(水溶性リグニン)であることが確認された。

以上の結果本剤の有効成分が多糖及び水溶性リグニンであることが確認された。

次に、本発明者は前記の如くして得た剤を用いて次のような実験に供した。

(実験例1)

5 μ l/200 μ lの粗製タバコモザイクウイルス(TMV-UM)に本ウイルス剤20ppmを加え、蘇とう後、検定植物ニコチアナグロチノーサ(Nicotiana glauca)にカーゴランダムにて接種、その後局部病斑(Local Lesion)の発生を検討した結果、対照区に比し、95%の阻止率を示した。

(実験例2)

インフルエンザウイルスA₂型を豚の腎臓細胞

を宿主細胞とし、これを増殖したものを用いた。

(1) 対照区、(2) 本抗ウイルス剤区を設け、2日間37℃にて細胞培養した後、ニワトリ赤血球凝集価を調べた。

| 区 | 項目 | 添加量 | 赤血球凝集価 | 抑制率(%) |
|----------|----|------|--------|--------|
| 対照区 | | 0 | 154 | — |
| 本抗ウイルス剤区 | | 1ppm | 16 | 89.6 |

上表から明らかな如く本剤に顕著な抗ウイルス効果のあることが確認された。

(実施例3)

急性ウイルス肝炎と診断された患者に本抗ウイルス剤200mgを毎日1回朝食前に服用させたと、次のような治療効果が認められた。因みに患者は男性42才本年1月中旬入院、同3月中旬退院した。

認められた。

(実施例3)

竹を粉碎機にかけ、これにより粉状に微細に粉碎する。しかして、この竹の粉体1g当たり5Lの水を加え、これを前記実施例2と同様な手段により煮沸し、これにより竹中に含有されている多糖及び水溶性リグニンを含有している抽出液を得る。

また、この抽出液を用いて、その抗ウイルス実験を前記実施例1と同様な手段により行なつた結果、優れた抗ウイルス効果が認められた。

4. 図面の簡単な説明

第1図は抽出された抽出液のSephaclex G-25 カラムクロマトグラフィーによる分画展開図、第2図は第1図におけるA区分を更にDEAEセルローズカラムクロマトグラフィーにより分画した展開図である。

特許出版人 野田食品工業株式会社

代理人 弁理士 和田 成

特開昭57-106624(3)

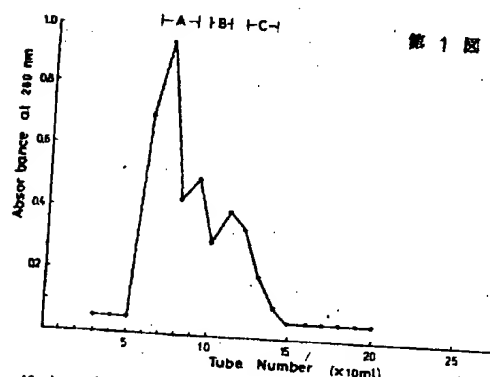
| | 飲用前 | 3日後 | 10日後 | 17日後 | 24日後 | 31日後 | 37日後 |
|-------|-----|-----|------|------|------|------|------|
| G.O.T | 561 | 533 | 96 | 79 | 89 | 80 | 38 |
| G.P.T | 522 | 471 | 122 | 90 | 93 | 64 | 38 |
| ALP | 275 | 260 | 227 | 211 | 167 | 135 | 138 |
| LDH | 876 | 780 | 362 | 477 | 435 | 358 | 340 |

(実施例2)

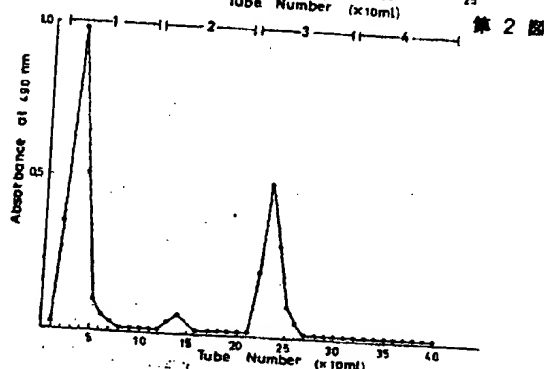
バガス1g当たり、5Lの水を加え、これを加熱して100℃にて3～10時間煮沸し、これによりバガス中の多糖及び水溶性リグニンを水に溶解せしめる。しかる後ろ布でろ過すると共にそのろ液を更に遠心分離機にかけ、残渣を除き抽出液を得る。

しかしてこの抽出液を前記実施例と同様な手段により分離、同定した結果、該抽出液に多糖及び水溶性リグニンの含有されていることが確認された。

また、前記の如くして得られた抽出液を用いてその抗ウイルス実験を前記実施例1と同様な手段により行なつた結果、優れた抗ウイルス効果が



第1図



第2図

(19)



JAPANESE PATENT OFFICE

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **11098971 A**

(43) Date of publication of application: **13.04.99**

(51) Int. Cl.

A23L 1/221
A23G 3/00
A23G 3/30
A23L 1/30
// A61K 7/26

(21) Application number: **09279567**

(22) Date of filing: **26.09.97**

(71) Applicant: **NISSHIN SUGAR MFG CO LTD**

(72) Inventor: **OZAWA OSAMU**
KOJIMA YOSHIHIRO

(54) **CARIES RESISTING AGENT AND FOOD AND BEVERAGE CONTAINING THE SAME**

(57) Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a caries resisting agent obtained easily and at a low cost from an agricultural waste material, suppressing the generation of glucan from sucrose by a streptococcus in a mouth cavity, and useful for a food and a beverage by using a fraction extracted from a bagasse with an alkaline agent as an active ingredient.

SOLUTION: This caries resisting agent uses a fraction obtained by extracting 1 pt.wt. solid portion of a bagasse such as a sugar cane bagasse produced as a byproduct in the production of a raw sugar from the sugar cane with 1-50 pt.wt. 0.05-2.0 N sodium hydroxide or potassium

hydroxide aqueous solution, as an active ingredient. Further, it is preferable to blend 0.1-50 pt.wt. caries resisting agent with 100 pt.wt. caries forming component for preparing a food and beverage capable of suppressing the caries forming property.

COPYRIGHT: (C)1999,JPO

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平11-98971

(43) 公開日 平成11年(1999) 4月13日

| (51) Int.Cl. ⁸ | 識別記号 | FI |
|-----------------------------|-------|---------------|
| A 2 3 L 1/221 | | A 2 3 L 1/221 |
| A 2 3 G 3/00 | 1 0 1 | A 2 3 G 3/00 |
| | | 3/30 |
| A 2 3 L 1/30 | | A 2 3 L 1/30 |
| // A 6 1 K 7/26 | ACK | A 6 1 K 7/26 |
| | | ACK |
| 審査請求 未請求 請求項の数 6 FD (全 5 頁) | | |

(21) 出願番号 特願平9-279567

(22) 出願日 平成9年(1997) 9月26日

(71) 出願人 000226769

日新製糖株式会社

東京都中央区日本橋小網町14番1号

(72) 発明者 小澤 修

東京都江東区豊洲4丁目9番11号 日新製糖株式会社商品開発部内

(72) 発明者 小島 芳弘

東京都江東区豊洲4丁目9番11号 日新製糖株式会社商品開発部内

(74) 代理人 弁理士 佐伯 健児

(54) 【発明の名称】 抗う蝕性剤及びそれを含有する飲食物

(57) 【要約】

【課題】 農産廃棄物であるバガスを利用して得られる抗う蝕性剤及びそれを含有する飲食物を提供する。

【解決手段】 バガスから弱アルカリ性下(0.05~2.0N水酸化ナトリウム又は水酸化カリウム溶液)で抽出される画分で、口腔内連鎖球菌によるシュークロースからのグルカン生成を抑制する抗う蝕性剤及びそれを含有する飲食物。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 バガスからアルカリ剤で抽出される画分を有効成分とする抗う蝕性剤。

【請求項2】 アルカリ剤が、水酸化ナトリウム又は水酸化カリウム水溶液である請求項1記載の抗う蝕性剤。

【請求項3】 アルカリ剤が、0.05～2.0N水酸化ナトリウム又は水酸化カリウム水溶液である請求項2記載の抗う蝕性剤。

【請求項4】 アルカリ剤が、0.05～2.0N水酸化ナトリウム又は水酸化カリウム水溶液で、バガス固形分1重量部に対して1～50重量部である請求項2記載の抗う蝕性剤。

【請求項5】 請求項1～4のいずれか1項記載の抗う蝕性剤を配合して成ることを特徴とするう蝕原性を抑制する飲食物。

【請求項6】 請求項5記載の抗う蝕性剤の添加量が、う蝕原性成分100重量部に対して0.1～50重量部であることを特徴とするう蝕原性を抑制する飲食物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、抗う蝕性剤、特に食品分野に応用でき、バガスからアルカリ抽出によって得られる抗う蝕性剤及びそれを含有する飲食物に関する。

【0002】

【従来の技術】う蝕は、口腔内連鎖球菌であるストレプトコッカス・ミュータンス (*Streptococcus mutans*) の不溶性グルカン生成酵素であるグルコシルトランスフェラーゼの作用により、シュクロースから付着性不溶性グルカンが生じ、それが歯面に付着してプラークを形成することによって発生する。プラーク内では、ストレプトコッカス・ミュータンスや種々の乳酸菌が増殖し、シュクロースのみならず、種々の炭素源から乳酸を生成する。プラークにより唾液中への拡散を抑えられた乳酸は、局部的に濃縮されエナメル質を脱灰してう蝕を引き起こす。このように、う蝕の発生には、口腔内連鎖球菌であるストレプトコッカス・ミュータンス、シュクロースのようなプラーク生成の原料となる成分である、いわゆるう蝕原性成分、さらに活動の場である歯の三要素が関与する。従って、これらの要素の一つでも取り除けばう蝕を予防でき、従来から種々の手段が講じられている。例えば、歯磨きをはじめ、抗生物質の使用によるストレプトコッカス・ミュータンスの排除や歯質(エナメル質)の強化など歯科領域の手段で行われている。しかし、日常の食生活で直接、う蝕の予防を行うことはなかなか困難であり、又、今日の食生活でシュクロースの摂取をなくすことは不可能である。

【0003】そこで、プラーク形成の原因となるシュクロースに代わり、ストレプトコッカス・ミュータンスに資化されず、酵素作用の基質とならない、つまり付着

性不溶性グルカンを生成しない代用糖、すなわち、低う蝕性甘味料が開発され、その使用が試みられているが、その甘味、味質はシュクロースに及ばず、更にコストが高くつく等の欠点がある。

【0004】又、低う蝕性甘味料とは異なり、シュクロースに配合することにより、シュクロースからのプラーク形成を阻止する抗う蝕性剤も開発されている。例えば、主成分をポリフェノールとする緑茶抽出物(特開平3-77817号公報)、烏龍茶抽出物(特開平4-178320号公報)が、それぞれ不溶性グルカンの生成を抑制することが開示されている。しかし、これらお茶抽出物には色、味質、コストの面で問題があり、その使用に制限がある。

【0005】又、天然素材からアルカリ抽出される抗う蝕性剤としては、例えば、特開平6-279250号に穀物由来のヘミセルロースB画分を有効成分とする抗う蝕性剤が開示されている。そして、ヘミセルロースB画分の製造方法は1975年に、サウスゲート・ディ・エイ・ティによって報告されている("The Chemistry of Dietary Fiber" in "Fiber in Human Nutrition", Spiller, G. A. 及びAmen, R. J. 編, 31ページ, Plenum Press, New York (1996))。ヘミセルロースB画分は、米糠や、穀類の糠、ふすま、外皮等から、脂質、でんぷん質、蛋白質、無機質等を除去した残渣より、アルカリ側で抽出されるアラビノキシランを主体とした水溶性画分である。よって、このヘミセルロースB画分は、本発明のようにバガスに直接アルカリ処理することにより抽出される成分とは明らかに異なる。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】本発明の課題は、本来、利用価値の少ない農産廃棄物であるバガスから安価で容易に有効な抗う蝕性剤を得ることにある。

【0007】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、農産廃棄物であるバガスに抗う蝕作用が有るか否かについて、種々の抽出溶剤を用い、抽出物について検討した。その結果、バガスからアルカリ剤を使って抽出することにより、その抽出成分に有効な抗う蝕作用が得られることを見出し、本発明を完成するに至った。

【0008】

【発明の実施の形態】

【0009】本発明で用いるバガスは、甘蔗からの原料糖生産時に副生される甘蔗バガスを用いることができる。

【0010】バガスからの抗う蝕性成分のアルカリ抽出において用いるアルカリ剤は、アルカリ溶液を用いることができ、例えば、水酸化ナトリウムと水酸化カリウム水溶液を用いることができる。そのアルカリ溶液の濃度は0.05～2.0Nが好ましい。アルカリ溶液の量は、バガス固形分1重量部に対して1～50重量部を用いることができ

る。

【0011】抽出時の温度条件は室温から100℃を用いることができるが、30～70℃が好ましい。抽出時間は1～48時間の範囲が好ましい。この時適宜攪拌することも有効である。抽出終了後は遠心分離や濾過の操作により有効成分を含む抽出液と、残渣に分離することができる。抽出液は、中和、脱塩操作を経た後、濃縮を行い、又、公知の賦形剤を添加することにより液状、ペースト状、粉状又は粒状の抗う蝕性剤にすることができる。

【0012】以下の比較例1に示すように、バガスからのヘミセルロースB画分には抗う蝕効果は見られない。従って、本発明のバガスからアルカリ抽出によって得られる抗う蝕性剤は、ヘミセルロースB画分とは異なる物質である。

【0013】本発明で得られる抗う蝕性剤は、う蝕原性成分であるシュクロースを原料の一部とする食品、例えば各種飲料、菓子類等に使用し、飲食物とすることができる。本発明の抗う蝕性剤のう蝕防止効果を発揮する添加量は、う蝕原性成分(例えばシュクロース)100重量部に対して0.1～50重量部、好ましくは0.5～10重量部である。

【0014】

【実施例】以下に、実施例を挙げて本発明を更に詳しく説明するが、本発明はこれらに限定されるものでない。

実施例1 抗う蝕性成分の抽出、酵素の調製、抗う蝕作用の測定

(1) バガスからの抗う蝕性成分の抽出

沖縄産乾燥バガス10gを三角フラスコに取り、0～1.0N水酸化ナトリウム溶液又は水酸化カリウム溶液200mlを加え、30～70℃で200rpmで回転振とうして6～24時間抽出した。吸引濾過して残渣を除き、濾液を塩酸で中和した。遠心分離して不溶物を除き、抽出液を得た。

【0015】(2) 不溶性グルカン生成酵素の調製
Streptococcus sobrinus 6715株(血清型g)をブレイン・ハート・インフュージョン(BHI)培地10mlで培養した後、同培地1リットルに接種し、37℃で18時間窒素ガス置換培養した。得られた培養液を遠心分離(7,500rpm、20分)し、培養上清を得た。この上清に50%飽和硫酸アンモニウムを添加し沈降させた。これを遠心分離して回収し、25mlの50mMリン酸緩衝液(pH 6.8)に溶解しセルロース透析膜(分画分子量10,000)に入れ、2リットルの同緩衝液(数回交換)に対して24時間透析した。これを遠心分離して不溶物を除いたものを不溶性グルカン生成酵素とした。

【0016】(3) 抗う蝕作用の測定

抗う蝕作用の測定方法として、不溶性グルカンの生成阻害効果を測定した。即ち、1%(w/v)シュクロース、0.05%(w/v)アジ化ナトリウム、0.1%(w/v)デキストランT-10*

表1

* (ファルマシア)、各バガス抽出物及び不溶性グルカン生成酵素を含有した2.0mlの50mMリン酸緩衝液(pH 6.8)を、37℃で18時間インキュベートした。反応後、よくミキサーで攪拌し波長550nmの濁度を測定した。使用する酵素量は、抽出物無添加時の濁度が1.0に最も近い反応系の酵素量とした。通常、5倍希釈した酵素液0.1mlを使用した。使用したバガス抽出物には、各抽出液0.2ml(反応液量の1/10量)を使用した。尚、阻害効果測定において、抽出物中に含まれる塩の影響がないことをあらかじめ確認しておいた。阻害効果は、無添加時の濁度をコントロールとし、バガス抽出物添加時の濁度の減少を%阻害率で表した。

【0017】(4) 結果

① アルカリ剤の種類と濃度の影響

結果を図1に示す。水酸化カリウム及び水酸化ナトリウムで24時間抽出した両画分とも不溶性グルカンの生成阻害効果が見られた。この内、水酸化ナトリウム0.1Nの濃度の時、最も高い阻害効果を示した(阻害率51%)。

【0018】② 抽出温度の影響

水酸化ナトリウムの場合の結果を図2に示す。30℃、50℃及び70℃とも阻害効果が見られ、その内、30℃の時に最も高い阻害効果を示した。

【0019】③ 抽出時間の影響

水酸化ナトリウムの場合の結果を図3に示す。6時間から24時間の抽出で阻害効果が見られ、その内、水酸化ナトリウム濃度0.2Nで6時間抽出の時、最も高い阻害効果を示した(阻害率60%)。

【0020】実施例2 抽出物の濃度と阻害効果の関係

(1) バガスからの抗う蝕性成分の抽出

実験例1で使用したと同じバガス100gに0.1N水酸化ナトリウム溶液2リットルを加え、30℃で24時間、攪拌して抽出した。吸引濾過して残渣を除き、濾液を塩酸で中和した。遠心分離して不溶物を除き、上清をセルロース透析膜(分画分子量8,000)に入れ水道水20リットル(数回交換)に対して一晚透析した後、脱塩水20リットルに対して透析することにより脱塩した。これを遠心分離後、メンブレンフィルター(3.0μm)で濾過し、不溶物を除き、濃縮乾固して抽出物5.3gを得た。

【0021】(2) 阻害効果の測定

抽出物0～200μgを実施例1の(3)の反応系にバガス抽出物として添加して、実施例1の(3)に記載した方法で測定した。

【0022】(3) 抽出物の構成物質

(1)で得られた抽出物中の成分分析値を表1に示す。糖含量はフェノール硫酸法により、構成糖は酸加水分解物をHPLCにより分析して求めた。蛋白質含量はケルダール法にて測定した。

【0023】

| 全糖 | 乾燥重量% |
|----------|-------|
| (グルコース) | 83 |
| (アラビノース) | (8) |
| (キシロース) | (21) |
| タンパク質 | (54) |
| | 11 |

【0024】(4)結果

抽出物の濃度と阻害効果の関係の結果を図4に示す。この様に、抽出物の濃度を高くすると共に阻害効果は高くなり、60 μ g/mlの濃度で添加した時、約50%の阻害率を示した。

【0025】実施例3 ハードキャンディーへの応用例
60% (w/v) シュクロース溶液1リットルに、試験2の(1)で得たバガス抽出物3.0g (対シュクロース0.5%)を溶解させ、減圧下で水分が2%以下になるまで加熱濃縮し、これにクエン酸10g及び少量のレモン香料と着色料を混合し、常法に従って成形しハードキャンディーを得た。本品は、バガス抽出物無添加のハードキャンディーと比較して、テクスチャー、甘味ともに特に影響されず、良好であった。

【0026】実施例4 チューインガムへの応用例
ガムベース200gを柔らかくなる程度に加熱し、これにシュクロース粉末600g及び実施例2の(1)で得たバガス抽出物3.0g (対シュクロース0.5%)を加え、さらに少量のハッカ香料と着色料を混合し、常法に従ってロールにより練り合わせ、成形することによってチューインガムを得た。本品は、バガス抽出物無添加のチューインガムと比較して、テクスチャー、甘味ともに特に影響されず、良好であった。

【0027】比較例1 バガスからヘミセルロースB画分の抗う蝕作用

(1) バガスからヘミセルロースB画分の抽出
“食物繊維”日本栄養士会 編、第一出版(1982)の“食物繊維の化学”、17~21ページに記載の方法に従って、以下のとおりバガスからヘミセルロースB画分を抽出した。即ち、実験例1で使用したと同じバガス10gにベンゼン-エタノール(2:1, v/v)300mlを添加し、室温で一晩攪拌して脂質を抽出した。プフナー漏斗で濾過し回収した脱脂バガスを、もう一度同試薬で洗浄、濾過後、80℃で4時間乾燥させた(乾燥重量9.0g)。乾燥脱脂バガスを350mlの脱塩水に懸濁し、75℃に保ちながら酢酸(0. *

* 42ml)と亜塩素酸ナトリウム(5.3g)を徐々に添加し脱リグニンした。1時間おきに同量の試薬を3回添加し脱リグニンを完了させた後、懸濁液を室温まで冷却し、濾過して同量の脱塩水で3回洗浄し、同量エタノールで3回洗浄、乾燥しホロセルロース7.5gを得た。

【0028】ホロセルロース7.5gを1.0N水酸化ナトリウム溶液250mlに懸濁し、室温で6時間攪拌してヘミセルロースを抽出した。濾過した残渣をさらに同様に抽出し、残渣を同量の脱塩水で2回洗浄した。抽出液と洗液を合わせ、酢酸で中和し、減圧下で1/10量まで濃縮した。遠心分離して濃縮液の沈殿(ヘミセルロースA画分)を除去し、残りの上清を水道水2リットル(数回交換)に対して一晩透析した後、脱塩水2リットル(数回交換)に対して一晩透析した。これに3倍量のエタノールを加え静置し、生じた沈殿(ヘミセルロースB画分)を遠心分離して回収した。これを75% (w/v) エタノール200ml、ついでエタノール200mlで洗浄乾燥し3.0gを得た。

【0029】(2) 不溶性グルカンの生成阻害効果の測定

(1)で得たヘミセルロースB画分を最終濃度100 μ g/mlに調整し、実施例1の(3)と同様に不溶性グルカン生成の阻害効果を調べた。その結果、阻害率は、0%であり、阻害効果は見られなかった。

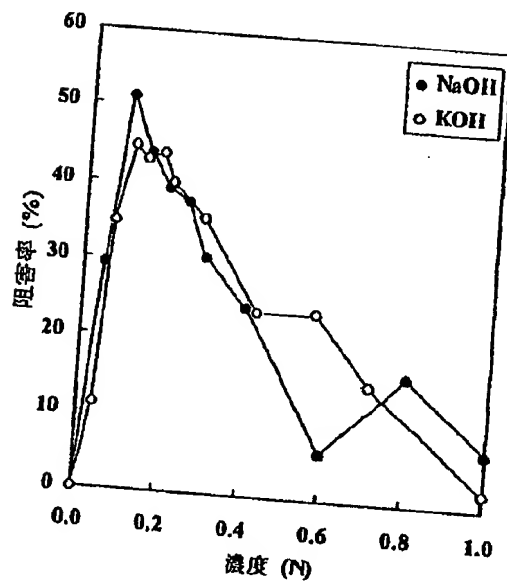
【0030】

【発明の効果】本発明により、本来、利用価値の少ない農産廃棄物であるバガスからアルカリ剤を使って、安価で容易に有効な抗う蝕性剤を提供できる。又該抗う蝕性剤を含有させることによりう蝕原性を抑制する飲食物を提供できる。

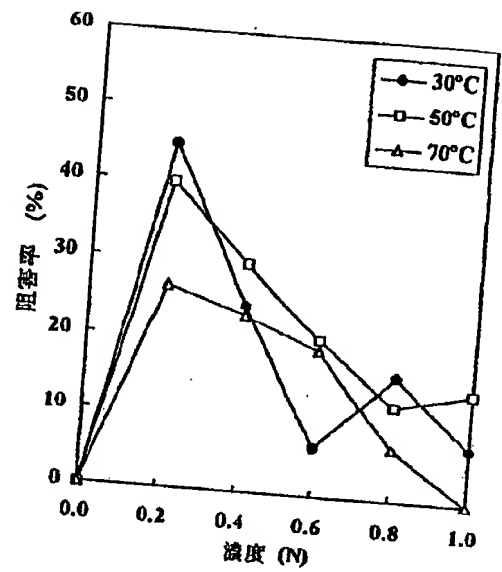
【図面の簡単な説明】

- 【図1】 アルカリ剤の種類と濃度の影響を示す図。
- 【図2】 抽出温度の影響を示す図。
- 【図3】 抽出時間の影響を示す図。
- 【図4】 抽出物の濃度と阻害効果の関係を示す図。

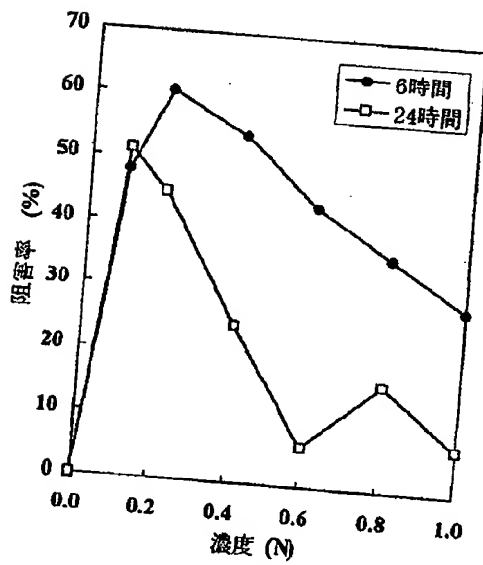
【図1】



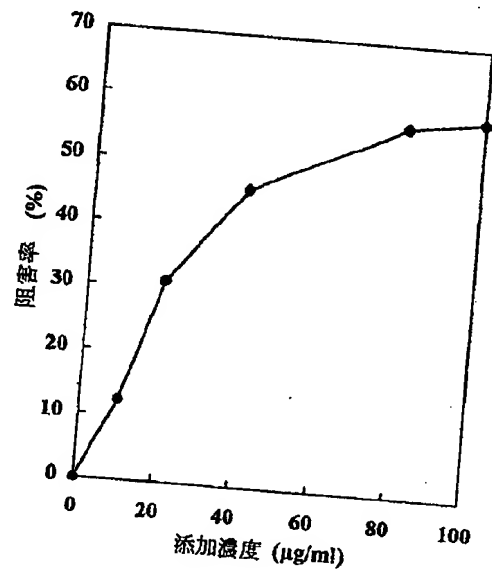
【図2】



【図3】



【図4】



REC'D 19 JAN 2001

WIPO

PCT

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)
[PCT36条及びPCT規則70]

| | | |
|--|---|-------------------------|
| 出願人又は代理人 の書類記号 | 今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知（様式PCT/ IPEA/416）を参照すること。 | |
| 国際出願番号 PCT/J P 99/05583 | 国際出願日 (日.月.年) 08.10.99 | 優先日 (日.月.年) 09.10.98 |
| 国際特許分類 (IPC) Int. C17 A61K35/78, 39/39, A23L1/214, 1/30, A23K1/16 | | |
| 出願人 (氏名又は名称) 三井製糖株式会社 | | |

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条 (PCT36条) の規定に従い送付する。

2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 5 ページからなる。

☒ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。
(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)
この附属書類は、全部で 5 ページである。

3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。

- I ☒ 国際予備審査報告の基礎
- II ☐ 優先権
- III ☐ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成
- IV ☒ 発明の単一性の欠如
- V ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
- VI ☒ ある種の引用文献
- VII ☐ 国際出願の不備
- VIII ☐ 国際出願に対する意見

| | | |
|---|----------------------------|-------------|
| 国際予備審査の請求書を受理した日 02.05.00 | 国際予備審査報告を作成した日 04.01.01 | |
| 名称及びあて先 日本国特許庁 (IPEA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号 | 特許庁審査官 (権限のある職員) 鶴見 秀紀 | 4 C 8 4 1 5 |
| 電話番号 03-3581-1101 内線 3452 | | |

I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に
 応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。
 PCT規則70.16, 70.17)

☐ 出願時の国際出願書類

☒ 明細書 第 2-5, 7-46 ページ、
 明細書 第 1, 6 ページ、
 明細書 第 _____ ページ、

出願時に提出されたもの
 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

☒ 請求の範囲 第 2-15, 31-60 項、
 請求の範囲 第 _____ 項、
 請求の範囲 第 16-30 項、
 請求の範囲 第 1 項、

出願時に提出されたもの
 PCT19条の規定に基づき補正されたもの
 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 21.09.00 付の書簡と共に提出されたもの

☒ 図面 第 1-6 _____ 図、
 図面 第 _____ ページ/図、
 図面 第 _____ ページ/図、

出願時に提出されたもの
 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

☐ 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、
 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、
 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、

出願時に提出されたもの
 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である _____ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表
☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

☐ 明細書 第 _____ ページ
☐ 請求の範囲 第 _____ 項
☐ 図面 図面の第 _____ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならず、本報告に添付する。)

IV. 発明の単一性の欠如

1. 請求の範囲の減縮又は追加手数料の納付の求めに対して、出願人は、

- ☐ 請求の範囲を減縮した。
- ☐ 追加手数料を納付した。
- ☐ 追加手数料の納付と共に異議を申立てた。
- ☐ 請求の範囲の減縮も、追加手数料の納付もしなかった。

2. ☒ 国際予備審査機関は、次の理由により発明の単一性の要件を満たしていないと判断したが、PCT規則68.1の規定に従い、請求の範囲の減縮及び追加手数料の納付を出願人に求めないこととした。

3. 国際予備審査機関は、PCT規則13.1、13.2及び13.3に規定する発明の単一性を次のように判断する。

- ☐ 満足する。
- ☒ 以下の理由により満足しない。

請求の範囲16～30項には甘蔗由来のエキスをワクチンアジュバンド剤の用途に用いる発明が、そして、請求の範囲31～45項には前記エキスを抗エンドトキシン剤の用途に用いる発明が、また、請求の範囲46～60項には前記エキスを成長促進剤に用いる発明がそれぞれ記載されている。しかし、請求の範囲1～15項には甘蔗由来のエキスを感染予防治療剤の用途に用いる発明が記載されている。したがって、これら用途に関わる4つの発明群が、単一の一般的発明概念を構成するように連関している一群の発明であるとは認められない。

4. したがって、この国際予備審査報告書を作成するに際して、国際出願の次の部分を、国際予備審査の対象にした。

☒ すべての部分

☐ 請求の範囲 _____

に関する部分

V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条 (PCT 35条(2)) に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性 (N)

請求の範囲 1-60 有
請求の範囲 無

進歩性 (IS)

請求の範囲 1-60 有
請求の範囲 無

産業上の利用可能性 (IA)

請求の範囲 1-60 有
請求の範囲 無

2. 文献及び説明 (PCT規則70.7)

国際調査で引用された下記文献1には、植物ウイルスに対して甘蔗廃糖蜜が抗ウイルス効果を有することが記載されているが、請求項1に記載された甘蔗由来のエキ스가人または動物のための感染予防治療剤である点が記載されていない。そして、人または動物と植物では、感染防御の作用機序が全く異なるため植物ウイルスに効果を有すると記載された下記文献1の技術を請求項1の発明に採用可能であるとは認められない。したがって、請求の範囲1~60の発明は、下記文献1に記載されておらず、また、その記載された事項から当業者にとっても自明であるとも認められない。

請求の範囲1~60は、産業上の利用可能性を有する。

文献1: J P, 60-54305, A

VI. ある種の引用文献

1. ある種の公表された文書 (PCT規則70.10)

| 出願番号 特許番号 | 公知日 (日. 月. 年) | 出願日 (日. 月. 年) | 優先日 (有効な優先権の主張) (日. 月. 年) |
|-----------------|------------------|------------------|------------------------------|
| JP, 11-98971, A | 13. 04. 99 | 26. 09. 97 | |

2. 書面による開示以外の開示 (PCT規則70.9)

| 書面による開示以外の開示の種類 | 書面による開示以外の開示の日付 (日. 月. 年) | 書面による開示以外の開示に言及している 書面の日付 (日. 月. 年) |
|-----------------|------------------------------|--|
| | | |

明細書

感染予防治療剤、抗エンドトキシン剤、ワクチンアジュバント剤
および成長促進剤

5

技術分野

本発明は、ヒト又は動物のための感染予防治療剤、抗エンドトキシン剤、ワクチンアジュバント剤及び成長促進剤に関する。

本発明はまた、ヒト又は動物の感染を予防治療する食品又は飼料に関する。

10 本発明はまた、ヒト又は動物のエンドトキシンによる疾患を予防治療する食品又は飼料に関する。

本発明はまた、ヒト又は動物のワクチンに関するアジュバント作用を有する食品又は飼料に関する。

本発明はまた、ヒト又は動物の成長を促進する食品又は飼料に関する。

15 技術背景

近年、免疫学の進歩により、ヒト及び動物の種々の疾患あるいは感染症の多くは、免疫機能の低下乃至は免疫機能の不全が原因と考えられるようになっている。

例えばヒトの場合、気管支喘息、アレルギー疾患、関節リウマチ、自己
20 免疫疾患、栄養障害、外科手術、高齢化、癌、臓器移植、妊娠等により多くの場合免疫機能が低下乃至は不全になり、呼吸器感染症、敗血症、尿路感染症等の感染症を併発する。従来、このような疾患や感染症に関しては各種抗生物質が投与されている。しかしながら、抗生物質は継続的に投与すると、耐性菌の発生により特定の抗生物質の効力が減弱して、最近クロ
25 ーズアップされている院内感染の問題も起きている。このようなことから抗生物質のみに依存するのではなく、その使用量を減らし、免疫機能そのものを高めることにより感染の予防治療を行う薬品もしくは食品の開発が望まれている。

一方、畜水産業界においては、家畜、家禽又は養殖魚を効率よく飼育するため

除去した菌体を有効成分とする体重増加及び免疫増強剤（特開平2-11519号公報）、スベリヒユを含有する飼料により免疫を増強させかつ体重を増加させる方法（特開平6-141784号公報）が報告されている。

5 感染予防治療効果、抗エンドトキシン効果、ワクチンアジュバント効果はどれも免疫に関連しているが、これらの作用機構は異なり、感染予防治療剤が必ずしも抗エンドトキシン剤あるいはワクチンアジュバント剤になりうるわけではない。感染予防治療効果は感染症を引き起こすウイルスや細菌に対する効果であり、細菌の産生するエンドトキシンに対する効果とは異なるものである。また、高い感染予防治療効果を有するものは、ワクチンの抗体価を上げる場合もあるが、
10 ワクチンと共存する場合に弱毒化ワクチンを攻撃し、ワクチンの効果をなくしてしまう場合もある。また、抗エンドトキシン効果とワクチンアジュバント効果は対象も作用機構も異なる効果である。従って、従来これらの効果を併せ持つ天然素材は報告されていなかった。

従来報告されてきた天然の感染予防治療剤および抗エンドトキシン剤は、効力
15 を示すには高濃度の経口投与が必要であったり、効力を発揮する添加量を食品や飼料に加えるとそれ自体の味、におい、風味が強く、食品や飼料の味やにおいに影響を与えたり、価格が上がるなどの理由で使用範囲が限られていた。従って、広範囲の食品や飼料に添加可能な味やにおいを有し、わずかな投与量で感染症の予防治療効果を示す、安価な天然素材が望まれている。従来報告されてきた天然
20 の感染予防治療剤及び抗エンドトキシン剤は、ある特定成分を有効成分とするものが多く、その長期摂取あるいは多量摂取による副作用の心配があった。このようなことから、わずかな投与量で感染症の予防治療効果を示す天然素材の中でも、複数の有効成分を含む、より天然に近いものが望まれている。

また、従来報告されてきたワクチンアジュバント剤としては、化合物アジュバ
25 ント、無機アジュバント、生物学的アジュバントなどがあり、これらは、精製された化合物、無機物、あるいは細菌の生産するエンテロトキシンやエンドトキシンなどを無毒化したものであった。従来用いられているアジュバントは、効果の発現が不安定であり、IgEを産生すると言う副作用が発現する場合もあった。しかし最近では、天然のより安全性の高いアジュバントを望まれるようになり

請求の範囲

1. (補正後) 甘蔗由来のエキスを有効成分とする、ヒト又は動物のための感染予防治療剤。
2. 甘蔗由来のエキスが、甘蔗汁、甘蔗の溶媒抽出液および甘蔗由来の糖蜜より選ばれる原料を、固定担体を用いたカラムクロマトグラフィーで処理することにより得られる画分である請求項1記載の感染予防治療剤。
3. 甘蔗由来のエキスが、甘蔗汁、甘蔗の溶媒抽出液および甘蔗由来の糖蜜より選ばれる原料を、固定担体としての合成吸着剤を充填したカラムに通液し、該合成吸着剤に吸着された成分を、水、メタノール、エタノール及びこれらの混合物から選ばれる溶媒で溶出することにより得られる画分である請求項2記載の感染予防治療剤。
4. 甘蔗由来のエキスが、甘蔗汁、甘蔗の溶媒抽出液および甘蔗由来の糖蜜より選ばれる原料を、固定担体としてのイオン交換樹脂を充填したカラムでの親和力の差を利用したカラムクロマトグラフィー処理により分離して得られる画分のうち、波長420nmの光を吸収する画分である請求項2記載の感染予防治療剤。
5. イオン交換樹脂が陽イオン交換樹脂である請求項4記載の感染予防治療剤。
6. 陽イオン交換樹脂が強酸性陽イオン交換樹脂である請求項5記載の感染予防治療剤。
7. 強酸性陽イオン交換樹脂がナトリウムイオン型もしくはカリウムイオン型である請求項6記載の感染予防治療剤。
8. イオン交換樹脂がゲル型である請求項4～7のいずれか一項記載の感染予防治療剤。
9. カラムクロマトグラフィー処理が擬似移動床式連続分離法で行われる請求項4～8のいずれか一項記載の感染予防治療剤。
10. 波長420nmの光を吸収する画分を更に電気透析処理に付して塩分を低減したところの、請求項4～9のいずれか一項記載の感染予防治療剤。
11. 甘蔗由来のエキスが、バガスを水、親水性溶剤、またはこれらの混合物で抽出して得られるものである請求項1記載の感染予防治療剤。
12. 親水性溶媒がエタノールである請求項11記載の感染予防治療剤。

13. 抽出のための親水性溶媒が、60/40体積比以下の比でエタノールを含むエタノール-水混合溶媒である請求項11記載の感染予防治療剤。
14. 請求項1～13のいずれか一項記載の感染予防治療剤を含む食品。
15. 請求項1～13のいずれか一項記載の感染予防治療剤を含む飼料。
- 5 16. (補正後) 甘蔗由来のエキスを有効成分とするワクチンアジュバント剤。
17. (補正後) 甘蔗由来のエキスが、甘蔗汁、甘蔗の溶媒抽出液および甘蔗由来の糖蜜より選ばれる原料を、固定担体を用いたカラムクロマトグラフィーで処理することにより得られる画分である請求項16記載のワクチンアジュバント剤。
18. (補正後) 甘蔗由来のエキスが、甘蔗汁、甘蔗の溶媒抽出液および甘蔗由来の糖蜜より選ばれる原料を、固定担体としての合成吸着剤を充填したカラムに通液し、該合成吸着剤に吸着された成分を、水、メタノール、エタノール及びこれらの混合物から選ばれる溶媒で溶出することにより得られる画分である請求項17記載のワクチンアジュバント剤。
19. (補正後) 甘蔗由来のエキスが、甘蔗汁、甘蔗の溶媒抽出液および甘蔗由来の糖蜜より選ばれる原料を、固定担体としてのイオン交換樹脂を充填したカラムでの親和力の差を利用したカラムクロマトグラフィー処理により分離して得られる画分のうち、波長420nmの光を吸収する画分である請求項17記載のワクチンアジュバント剤。
20. (補正後) イオン交換樹脂が陽イオン交換樹脂である請求項19記載のワクチンアジュバント剤。
21. (補正後) 陽イオン交換樹脂が強酸性陽イオン交換樹脂である請求項20記載のワクチンアジュバント剤。
22. (補正後) 強酸性陽イオン交換樹脂がナトリウムイオン型もしくはカリウムイオン型である請求項21記載のワクチンアジュバント剤。
- 25 23. (補正後) イオン交換樹脂がゲル型である請求項19～22のいずれか一項記載のワクチンアジュバント剤。
24. (補正後) カラムクロマトグラフィー処理が擬似移動床式連続分離法で行われる請求項19～23のいずれか一項記載のワクチンアジュバント剤。
25. (補正後) 波長420nmの光を吸収する画分を更に電気透析処理に付し

- て塩分を低減したところの、請求項 19～24 のいずれか一項記載のワクチンアジュバント剤。
26. (補正後) 甘蔗由来のエキスが、バガスを水、親水性溶剤、またはこれらの混合物で抽出して得られるものである請求項 16 記載のワクチンアジュバント剤。
27. (補正後) 抽出時の親水性溶剤がエタノールである請求項 26 記載のワクチンアジュバント剤。
28. (補正後) 抽出のための溶媒が、60/40 体積比以下の比でエタノールを含むエタノール-水混合溶媒である請求項 26 記載のワクチンアジュバント剤。
29. (補正後) 請求項 16～28 のいずれか一項記載のワクチンアジュバント剤を含む食品。
30. (補正後) 請求項 16～28 のいずれか一項記載のワクチンアジュバント剤を含む飼料。
31. 甘蔗由来のエキスを有効成分とする抗エンドトキシン剤。
32. 甘蔗由来のエキスが、甘蔗汁、甘蔗の溶媒抽出液および甘蔗由来の糖蜜より選ばれる原料を、固定担体を用いたカラムクロマトグラフィーで処理することにより得られる画分である請求項 31 記載の抗エンドトキシン剤。
33. 甘蔗由来のエキスが、甘蔗汁、甘蔗の溶媒抽出液および甘蔗由来の糖蜜より選ばれる原料を、固定担体としての合成吸着剤を充填したカラムに通液し、該合成吸着剤に吸着された成分を、水、メタノール、エタノール及びこれらの混合物から選ばれる溶媒で溶出することにより得られる画分である請求項 32 記載の抗エンドトキシン剤。
34. 甘蔗由来のエキスが、甘蔗汁、甘蔗の溶媒抽出液および甘蔗由来の糖蜜より選ばれる原料を、固定担体としてのイオン交換樹脂を充填したカラムでの親和力の差を利用したカラムクロマトグラフィー処理により分離して得られる画分のうち、波長 420 nm の光を吸収する画分である請求項 32 記載の抗エンドトキシン剤。
35. イオン交換樹脂が陽イオン交換樹脂である請求項 34 記載の抗エンドトキシン剤。

PCT

世界知的所有権機関

国際事務局

特許協力条約に基づいて公開された国際出願



| | | |
|--|----|------------------------------------|
| (51) 国際特許分類 A61K 35/78, 39/39, A23L 1/214, 1/30, A23K 1/16 | A1 | (11) 国際公開番号 WO00/21546 |
| | | (43) 国際公開日 2000年4月20日(20.04.00) |

(21) 国際出願番号 PCT/JP99/05583
(22) 国際出願日 1999年10月8日(08.10.99)

(30) 優先権データ

特願平10/301745

1998年10月9日(09.10.98)

特願平11/35047

1999年2月12日(12.02.99)

JP

JP

(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について)

三井製糖株式会社 (MITSUI SUGAR CO., LTD.)(JP/JP)

〒103-8423 東京都中央区日本橋本町二丁目8番2号 Tokyo, (JP)

エーザイ株式会社(EISAI CO., LTD.)(JP/JP)

〒112-8088 東京都文京区小石川四丁目6番10号 Tokyo, (JP)

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ)

水谷武雄(MIZUTANI, Takeo)(JP/JP)

〒221-0863 神奈川県横浜市神奈川区羽沢町1194-33 Kanagawa, (JP)

古家健二(KOGE, Kenji)(JP/JP)

〒247-0061 神奈川県鎌倉市台四丁目12番9-201号 Kanagawa, (JP)

永井幸枝(NAGAI, Yukie)(JP/JP)

〒253-0084 神奈川県茅ヶ崎市円蔵一丁目5番44号 Kanagawa, (JP)

村上博司(MURAKAMI, Hiroshi)(JP/JP)

〒247-0055 神奈川県鎌倉市小袋谷二丁目5番1-305号 Kanagawa, (JP)

河合俊和(KAWAI, Toshikazu)(JP/JP)

〒247-0055 神奈川県鎌倉市小袋谷二丁目5番1-304号 Kanagawa, (JP)

堀村 淳(KASHIMURA, Jun)(JP/JP)

〒144-0054 東京都大田区新蒲田二丁目22番3号 Tokyo, (JP)

清水健夫(SHIMIZU, Takeo)(JP/JP)

〒194-0032 東京都町田市本町田3549-3

藤の台団地2-27-501 Tokyo, (JP)

荒木誠一(ARAKI, Seiichi)(JP/JP)

〒300-0810 茨城県土浦市永国台1-35 Ibaraki, (JP)

鈴木 護(SUZUKI, Mamoru)(JP/JP)

〒305-0035 茨城県つくば市松代1丁目30番2-A101号 Ibaraki, (JP)

(74) 代理人

弁理士 松井光夫(MATSUI, Mitsuo)

〒105-0003 東京都港区西新橋二丁目19番2号

西新橋YSビル3階 Tokyo, (JP)

(81) 指定国 AU, US, 欧州特許 (DE, ES, FR, GB, IT, NL)

添付公開書類

国際調査報告書

(54) Title: PREVENTIVES/REMEDIES FOR INFECTION, ANTI-ENDOTOXIN AGENTS, VACCINE ADJUVANTS AND GROWTH PROMOTERS

(54) 発明の名称 感染予防治療剤、抗エンドトキシン剤、ワクチンワクチンアジュバント剤および成長促進剤

(57) Abstract

Preventives/remedies for infection, anti-endotoxin agents, vaccine adjuvants and growth promoters each containing as the active ingredient a sugar cane-origin extract which is safe and efficacious for humans and animals; and foods and feeds containing these products.

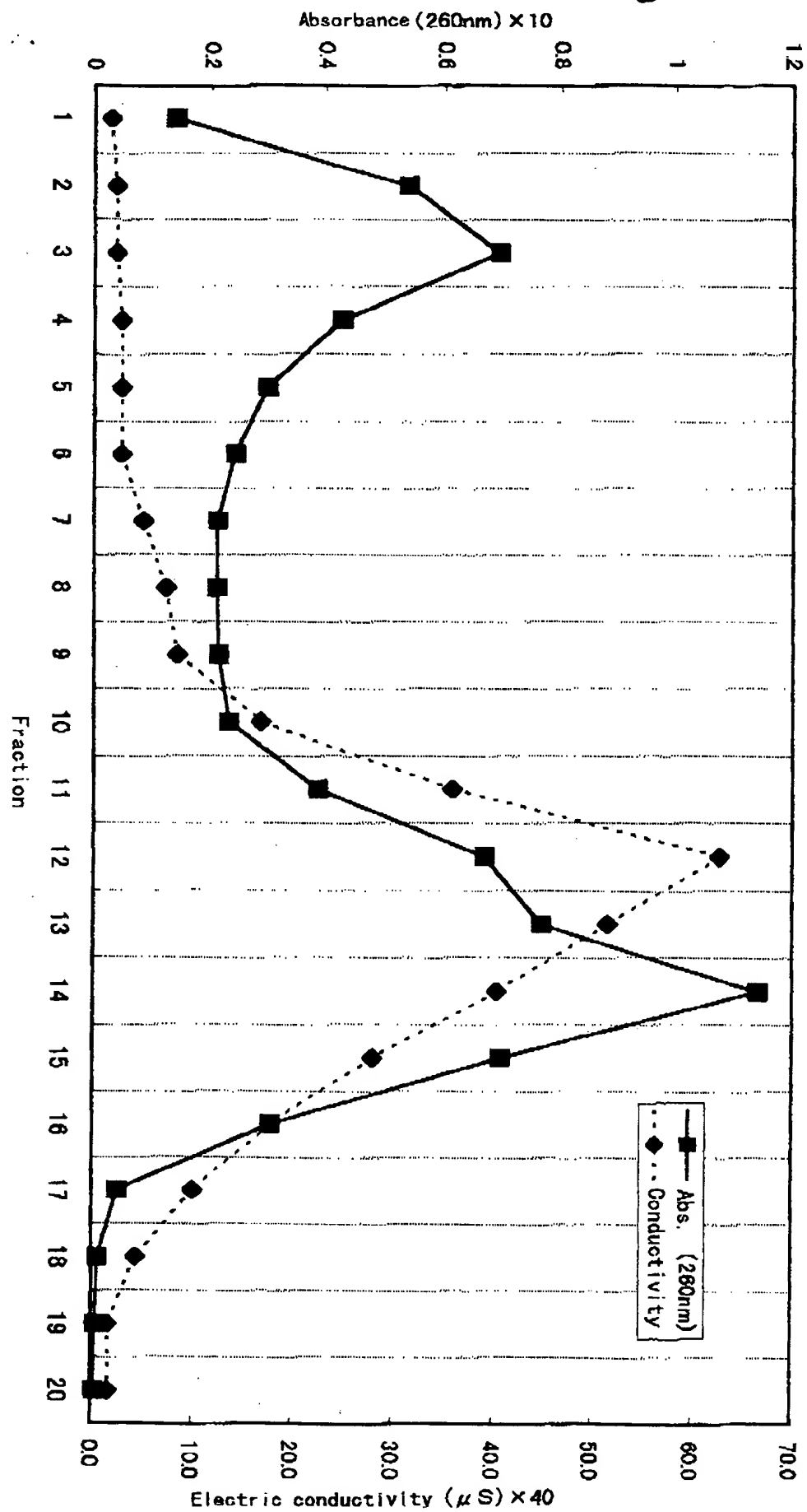
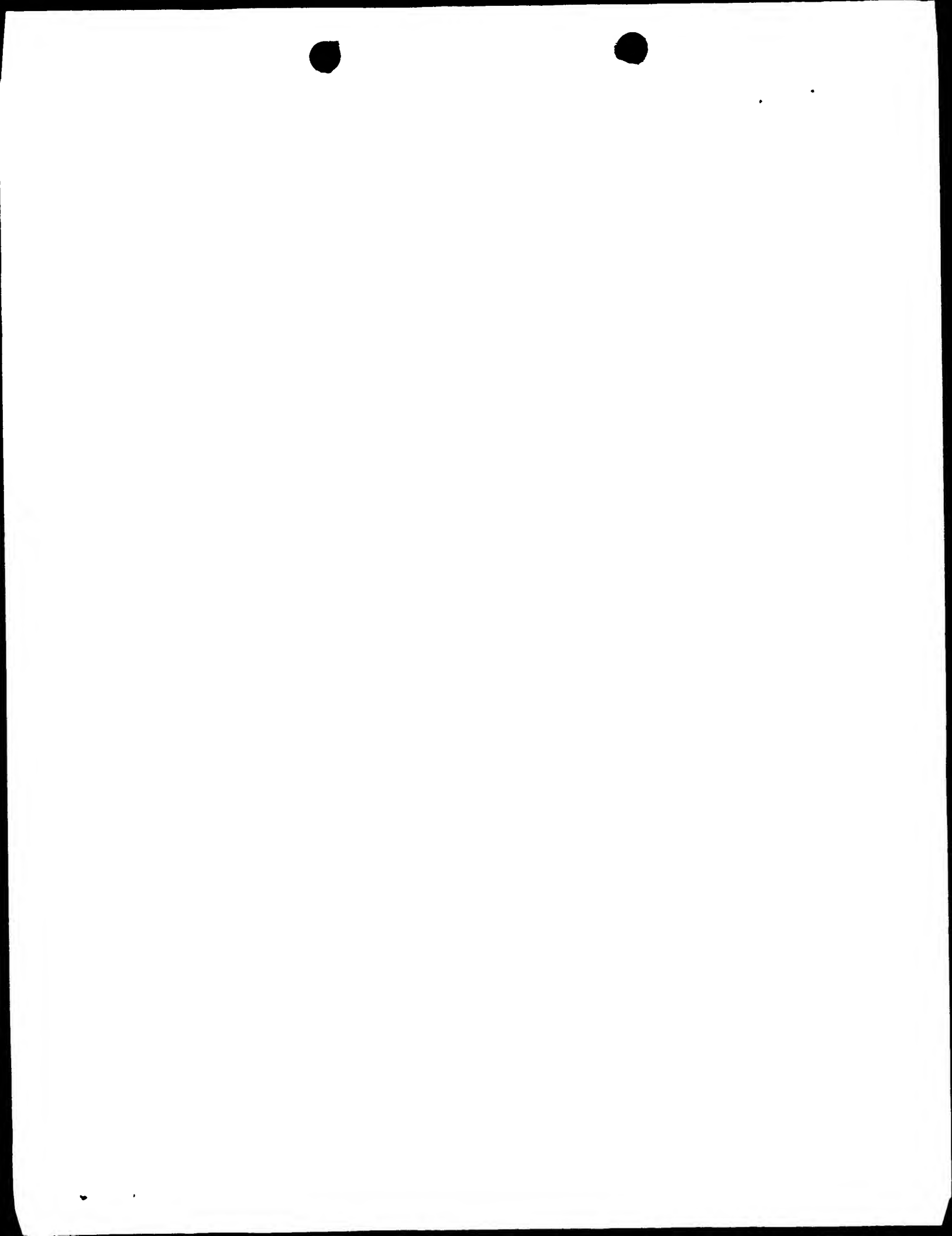
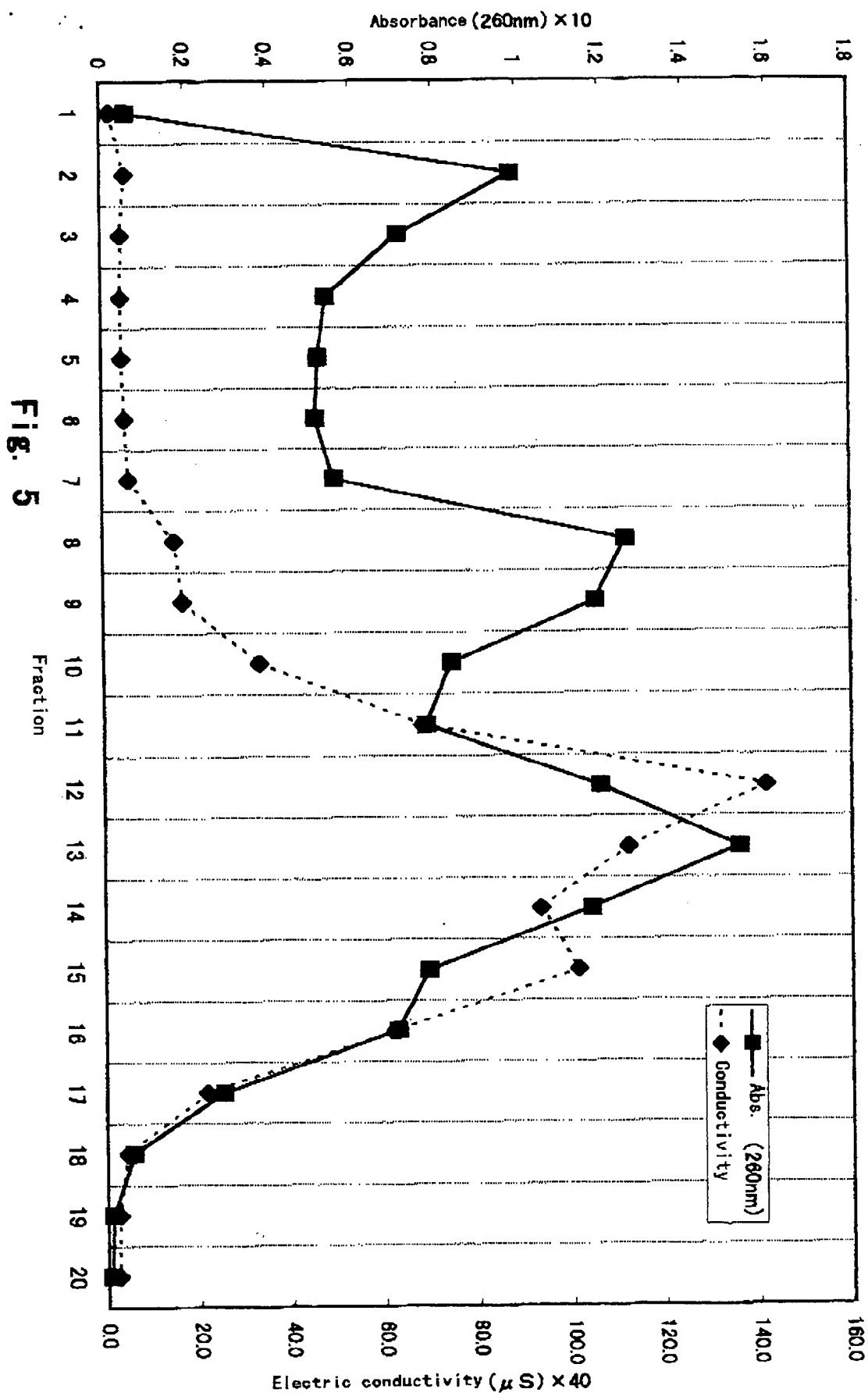
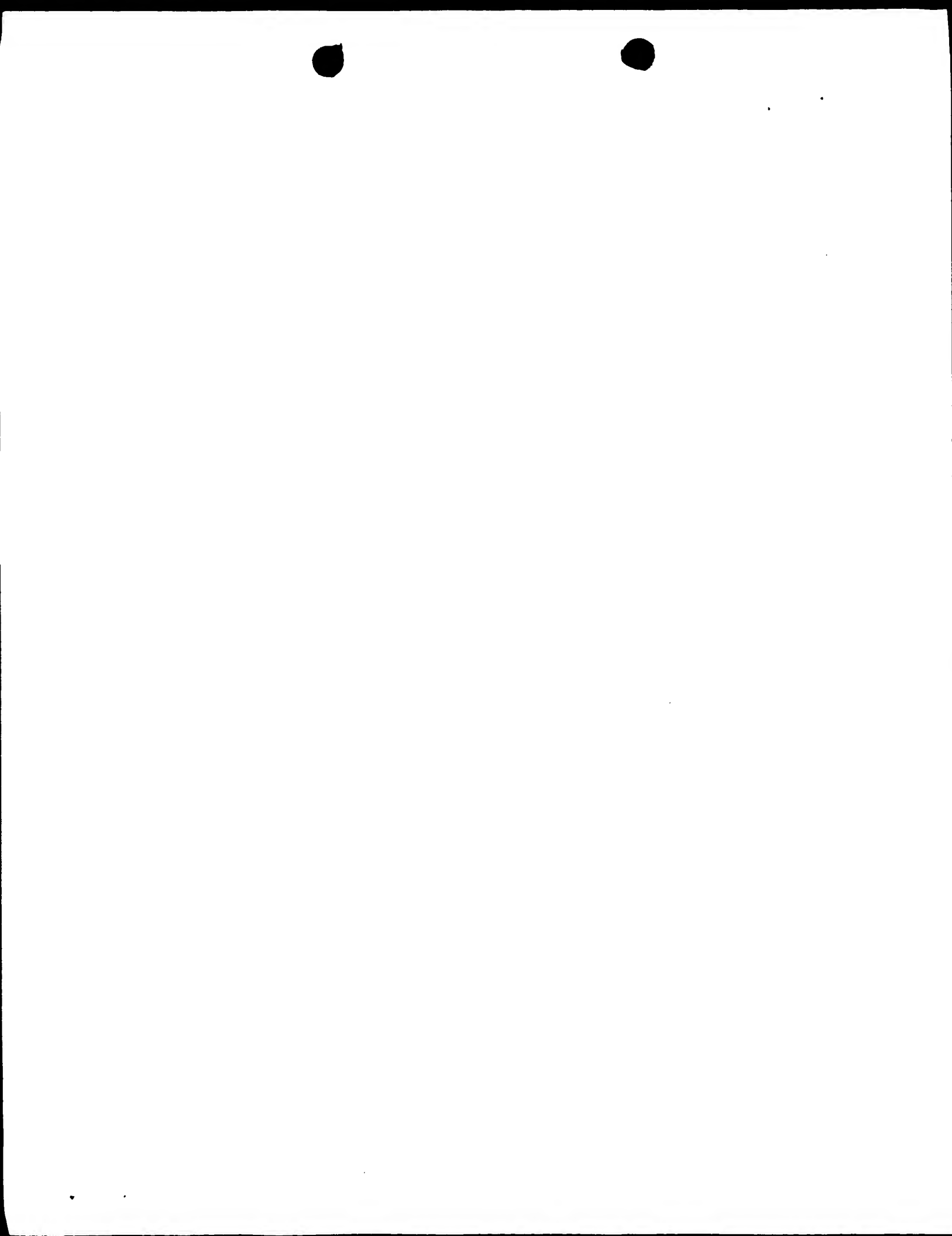


Fig. 4







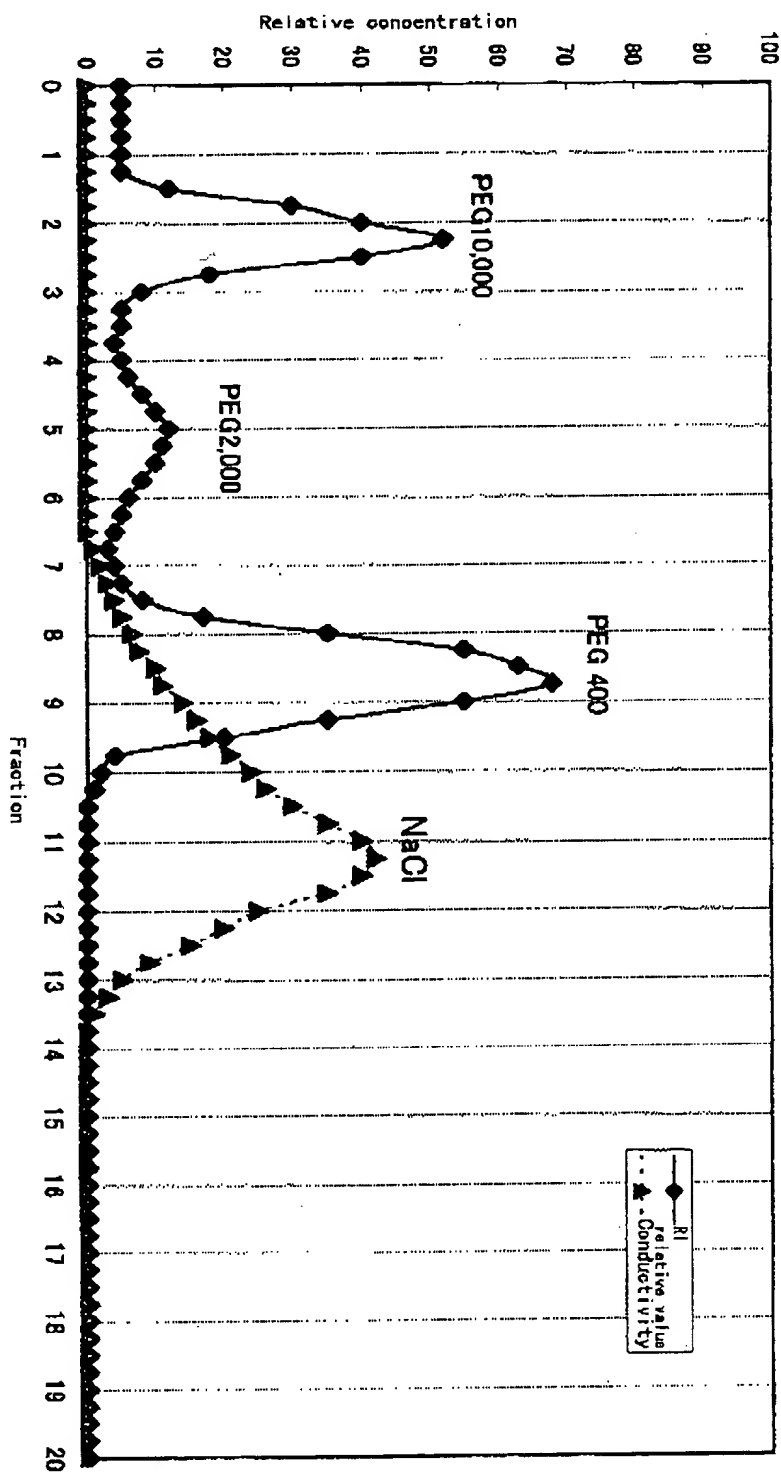
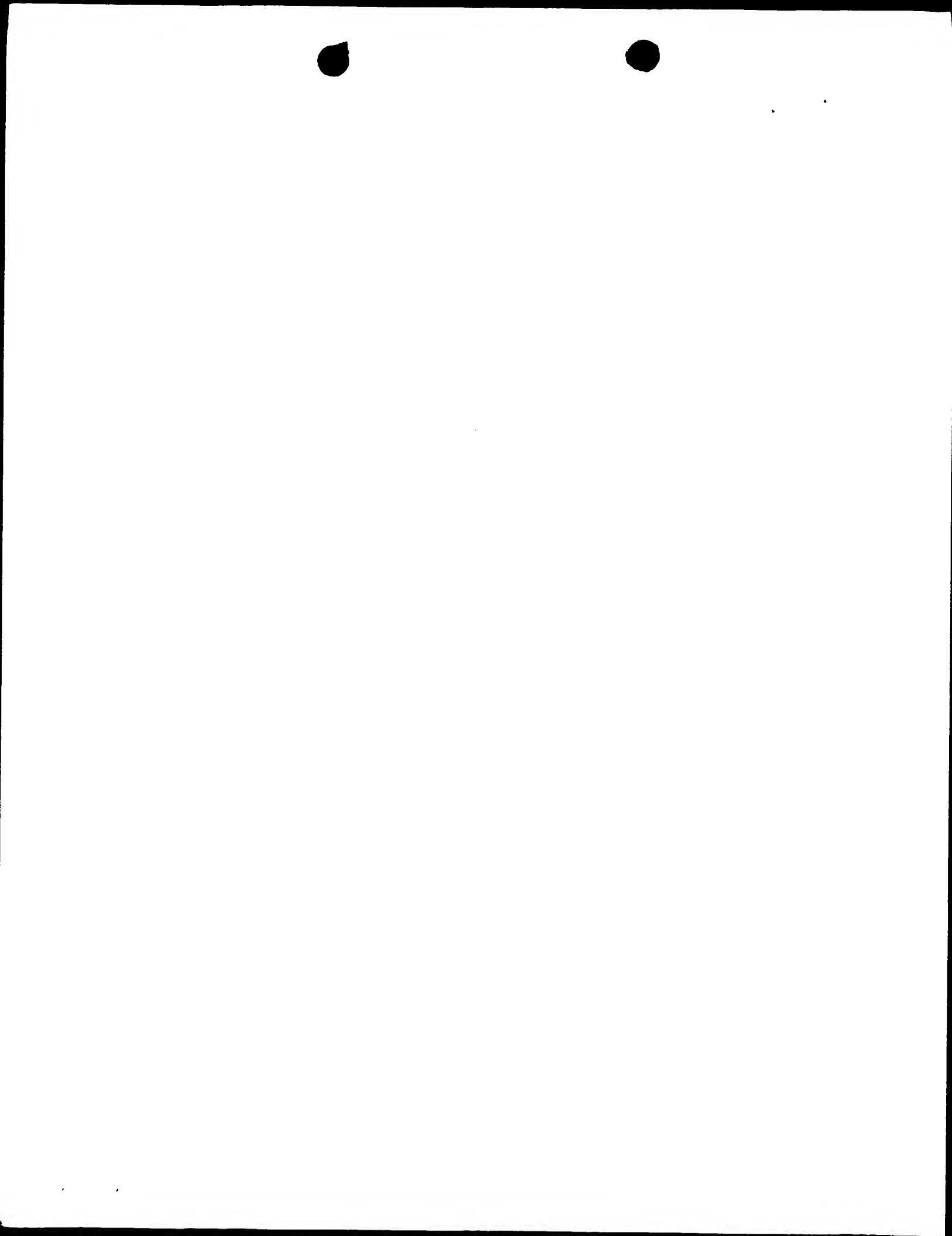


Fig. 6





PCT

特許協力条約に基づいて公開された国際出願

| | | |
|--|--|--|
| <p>(51) 国際特許分類7 A61K 35/78, 39/39, A23L 1/214, 1/30, A23K 1/16</p> | <p>A1</p> | <p>(11) 国際公開番号 WO00/21546 (43) 国際公開日 2000年4月20日(20.04.00)</p> |
| <p>(21) 国際出願番号 PCT/JP99/05583 (22) 国際出願日 1999年10月8日(08.10.99) (30) 優先権データ 特願平10/301745 1998年10月9日(09.10.98) JP 特願平11/35047 1999年2月12日(12.02.99) JP (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 三井製糖株式会社 (MITSUI SUGAR CO., LTD.)(JP/JP) 〒103-8423 東京都中央区日本橋本町二丁目2番2号 Tokyo, (JP) エーザイ株式会社(EISAI CO., LTD.)(JP/JP) 〒112-8088 東京都文京区小石川四丁目6番10号 Tokyo, (JP) (72) 発明者; および (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ) 水谷武雄(MIZUTANI, Takeo)(JP/JP) 〒221-0863 神奈川県横浜市神奈川区羽沢町1194-33 Kanagawa, (JP) 古家健二(KOGE, Kenji)(JP/JP) 〒247-0061 神奈川県鎌倉市台四丁目12番9-201号 Kanagawa, (JP) 永井幸枝(NAGAI, Yukie)(JP/JP) 〒253-0084 神奈川県茅ヶ崎市円蔵一丁目5番44号 Kanagawa, (JP) 村上博司(MURAKAMI, Hiroshi)(JP/JP) 〒247-0055 神奈川県鎌倉市小袋谷二丁目5番1-305号 Kanagawa, (JP)</p> | <p>河合俊和(KAWAI, Toshikazu)(JP/JP) 〒247-0055 神奈川県鎌倉市小袋谷二丁目5番1-304号 Kanagawa, (JP) 榎村 淳(KASHIMURA, Jun)(JP/JP) 〒144-0054 東京都大田区新蒲田二丁目22番3号 Tokyo, (JP) 清水健夫(SHIMIZU, Takeo)(JP/JP) 〒194-0032 東京都町田市本町田3549-3 藤の台団地2-27-501 Tokyo, (JP) 荒木誠一(ARAKI, Seiichi)(JP/JP) 〒300-0810 茨城県土浦市永国台1-35 Ibaraki, (JP) 鈴木 雄(SUZUKI, Mamoru)(JP/JP) 〒305-0035 茨城県つくば市松代1丁目30番2-A101号 Ibaraki, (JP) (74) 代理人 弁理士 松井光夫(MATSUI, Mitsuo) 〒105-0003 東京都港区西新橋二丁目19番2号 西新橋YSビル3階 Tokyo, (JP) (81) 指定国 AU, US, 欧州特許 (DE, ES, FR, GB, IT, NL) 派付公開書類 国際調査報告書</p> | |
| <p>(54) Title: PREVENTIVES/REMEDIES FOR INFECTION, ANTI-ENDOTOXIN AGENTS, VACCINE ADJUVANTS AND GROWTH PROMOTERS (54) 発明の名称 感染予防治療剤、抗エンドトキシン剤、ワクチンワクチンアジュバント剤および成長促進剤 (57) Abstract Preventives/remedies for infection, anti-endotoxin agents, vaccine adjuvants and growth promoters each containing as the active ingredient a sugar cane-origin extract which is safe and efficacious for humans and animals; and foods and feeds containing these products.</p> | | |

(57)要約

ヒト又は動物において安全かつ有効である、甘蔗由来のエキスを有効成分とする感染予防治療剤、抗エンドトキシン剤、ワクチンアジュバント剤及び成長促進剤ならびに、これらの剤を含む食品および飼料。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE アラブ首長国連邦
AL アルバニア
AM アルメニア
AT オーストリア
AU オーストラリア
AZ アゼルバイジャン
BA ボスニア・ヘルツェゴビナ
BB バルバドス
BE ベルギー
BF ブルキナ・ファソ
BG ブルガリア
BH バハレーン
BR ブラジル
BS バルムス
BY ベラルーシ
CA カナダ
CC 中央アフリカ
CG コンゴ
CH スイス
CI コートジボアール
CM カメルーン
CN 中国
CO コスタ・リカ
CR キューバ
CY キプロス
CZ チェコ
DE ドイツ
DK デンマーク

DM ドミニカ
EE エストニア
FI フィンランド
FR フランス
GB 英国
GD グレナダ
GE グルジア
GH ガーナ
GM ガンビア
GN ギニア
GW ギニア・ビサウ
HR キリシャ
HU クロアチア
ID インドネシア
IE アイルランド
IL イスラエル
IN インド
IS アイスランド
IT イタリア
JP 日本
KE ケニア
KG キルギスタン
KP 北朝鮮
KR 韓国

KZ カザフスタン
LC セントルシア
LI セントリビア
LK スリランカ
LR リベリア
LS レソト
LT リトアニア
LV ルクセンブルグ
MA モロッコ
MC モナコ
MD モルドヴァ
MG マダガスカル
MK マケドニア
ML マリ
MN モンゴル
MR モーリタニア
MW マラウイ
MX メキシコ
NE ニジェール
NL オランダ
NO ノルウェー
NZ ニュージーランド
PT ポーランド
RO ルーマニア

RU ロシア
SD スーダン
SE スウェーデン
SG シンガポール
SI スロベニア
SK スロヴァキア
SL シエラ・レオネ
SN セネガル
SZ スワジランド
TD チャド
TG トーゴ
TH タイ
TJ タジキスタン
TM トルクメニスタン
TN トンザニア
TR トルコ
TT トリニダード・トバゴ
UA ウクライナ
UG ウガンダ
US 米国
UZ ウズベキスタン
VN ヴェトナム
YU ユーゴスラビア
ZA 南アフリカ共和国
ZW ジンバブエ

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/05583

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ A61K35/78, 39/39, A23L1/214, 1/30, A23K1/16

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ A61K35/78, 39/39, A23L1/214, 1/30, A23K1/16

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CA (STN), MEDLINE (STN), BIOSIS (DIALOG)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-------------|--|-----------------------|
| X Y A | JP, 57-106624, A (Noda Shiyokukin Kogyo K.K.), 02 July, 1982 (02.07.82) (Family: none) | 1 2-15 16-60 |
| P, X | JP, 11-98971, A (Nisshin Sugar MFG Co., Ltd.), 13 April, 1999 (13.04.99) (Family: none) | 1 |

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
27 December, 1999 (27.12.99)Date of mailing of the international search report
11 January, 2000 (11.01.00)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.⁷ A61K35/78, 39/39, A23L1/214, 1/30, A23K1/16

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.⁷ A61K35/78, 39/39, A23L1/214, 1/30, A23K1/16

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で利用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN), MEDLINE (STN), BIOSIS (DIALOG)

C. 関連すると認められる文献

| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
|-----------------|---|--------------------|
| X Y A | JP, 57-106624, A (野田食菌工業株式会社) 2.7月.1982 (02.07.82) ファミリーなし | 1 2-15 16-60 |
| P, X | JP, 11-98971, A (日新製糖株式会社) 13.4月.1999 (13.04.99) ファミリーなし | 1 |

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に関する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

- 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

27.12.99

国際調査報告の発送日

11.01.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

鶴見 秀紀

4C

8415

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

PCT

世界知的所有権機関
国際事務局

特許力条約に基づいて公開された発明の公開

| | | | | |
|---|--|--|--|--|
| (51) 国際特許分類7 A61K 35/78, 39/39, A23L 1/214, 1/30, A23K 1/16 | A1 | (11) 国際公開番号 WO00/21546 (43) 国際公開日 2000年4月20日(20.04.00) | | |
| <table border="0"><tr><td data-bbox="115 409 824 1129">(21) 国際出願番号 PCT/JP99/05583 (22) 国際出願日 1999年10月8日(08.10.99) (30) 優先権データ 特願平10/301745 1998年10月9日(09.10.98) JP 特願平11/35047 1999年2月12日(12.02.99) JP (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 三井製糖株式会社 (MITSUI SUGAR CO., LTD)[JP/JP] 〒103-8423 東京都中央区日本橋本町二丁目8番2号 Tokyo, (JP) エーザイ株式会社(EISAI CO., LTD.)(JP/JP) 〒112-8088 東京都文京区小石川四丁目6番10号 Tokyo, (JP) (72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてののみ) 水谷武雄(MIZUTANI, Takeo)[JP/JP] 〒221-0863 神奈川県横浜市神奈川区羽沢町1194-33 Kanagawa, (JP) 古家健二(KOGE, Kenji)[JP/JP] 〒247-0061 神奈川県鎌倉市台四丁目12番9-201号 Kanagawa, (JP) 永井幸枝(NAGAI, Yukie)[JP/JP] 〒253-0084 神奈川県茅ヶ崎市円蔵一丁目5番44号 Kanagawa, (JP) 村上博司(MURAKAMI, Hiroshi)[JP/JP] 〒247-0055 神奈川県鎌倉市小袋谷二丁目5番1-305号 Kanagawa, (JP)</td><td data-bbox="824 409 1537 1129">河合俊和(KAWAI, Toshikazu)[JP/JP] 〒247-0055 神奈川県鎌倉市小袋谷二丁目5番1-304号 Kanagawa, (JP) 榎村 淳(KASHIMURA, Jun)[JP/JP] 〒144-0054 東京都大田区新蒲田二丁目22番3号 Tokyo, (JP) 清水健夫(SHIMIZU, Takeo)[JP/JP] 〒194-0032 東京都町田市本町田3549-3 藤の台団地2-27-501 Tokyo, (JP) 荒木誠一(ARAKI, Seiichi)[JP/JP] 〒300-0810 茨城県土浦市永国台1-35 Ibaraki, (JP) 鈴木 護(SUZUKI, Mamoru)[JP/JP] 〒303-0035 茨城県つくば市松代1丁目30番2-A101号 Ibaraki, (JP) (74) 代理人 弁理士 松井光夫(MATSUI, Mitsuo) 〒105-0003 東京都港区西新橋二丁目19番2号 西新橋YSビル3階 Tokyo, (JP) (81) 指定国 AU, US, 欧州特許 (DE, ES, FR, GB, IT, NL) 添付公開書類 国際調査報告書</td></tr></table> | | | (21) 国際出願番号 PCT/JP99/05583 (22) 国際出願日 1999年10月8日(08.10.99) (30) 優先権データ 特願平10/301745 1998年10月9日(09.10.98) JP 特願平11/35047 1999年2月12日(12.02.99) JP (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 三井製糖株式会社 (MITSUI SUGAR CO., LTD)[JP/JP] 〒103-8423 東京都中央区日本橋本町二丁目8番2号 Tokyo, (JP) エーザイ株式会社(EISAI CO., LTD.)(JP/JP) 〒112-8088 東京都文京区小石川四丁目6番10号 Tokyo, (JP) (72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてののみ) 水谷武雄(MIZUTANI, Takeo)[JP/JP] 〒221-0863 神奈川県横浜市神奈川区羽沢町1194-33 Kanagawa, (JP) 古家健二(KOGE, Kenji)[JP/JP] 〒247-0061 神奈川県鎌倉市台四丁目12番9-201号 Kanagawa, (JP) 永井幸枝(NAGAI, Yukie)[JP/JP] 〒253-0084 神奈川県茅ヶ崎市円蔵一丁目5番44号 Kanagawa, (JP) 村上博司(MURAKAMI, Hiroshi)[JP/JP] 〒247-0055 神奈川県鎌倉市小袋谷二丁目5番1-305号 Kanagawa, (JP) | 河合俊和(KAWAI, Toshikazu)[JP/JP] 〒247-0055 神奈川県鎌倉市小袋谷二丁目5番1-304号 Kanagawa, (JP) 榎村 淳(KASHIMURA, Jun)[JP/JP] 〒144-0054 東京都大田区新蒲田二丁目22番3号 Tokyo, (JP) 清水健夫(SHIMIZU, Takeo)[JP/JP] 〒194-0032 東京都町田市本町田3549-3 藤の台団地2-27-501 Tokyo, (JP) 荒木誠一(ARAKI, Seiichi)[JP/JP] 〒300-0810 茨城県土浦市永国台1-35 Ibaraki, (JP) 鈴木 護(SUZUKI, Mamoru)[JP/JP] 〒303-0035 茨城県つくば市松代1丁目30番2-A101号 Ibaraki, (JP) (74) 代理人 弁理士 松井光夫(MATSUI, Mitsuo) 〒105-0003 東京都港区西新橋二丁目19番2号 西新橋YSビル3階 Tokyo, (JP) (81) 指定国 AU, US, 欧州特許 (DE, ES, FR, GB, IT, NL) 添付公開書類 国際調査報告書 |
| (21) 国際出願番号 PCT/JP99/05583 (22) 国際出願日 1999年10月8日(08.10.99) (30) 優先権データ 特願平10/301745 1998年10月9日(09.10.98) JP 特願平11/35047 1999年2月12日(12.02.99) JP (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 三井製糖株式会社 (MITSUI SUGAR CO., LTD)[JP/JP] 〒103-8423 東京都中央区日本橋本町二丁目8番2号 Tokyo, (JP) エーザイ株式会社(EISAI CO., LTD.)(JP/JP) 〒112-8088 東京都文京区小石川四丁目6番10号 Tokyo, (JP) (72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてののみ) 水谷武雄(MIZUTANI, Takeo)[JP/JP] 〒221-0863 神奈川県横浜市神奈川区羽沢町1194-33 Kanagawa, (JP) 古家健二(KOGE, Kenji)[JP/JP] 〒247-0061 神奈川県鎌倉市台四丁目12番9-201号 Kanagawa, (JP) 永井幸枝(NAGAI, Yukie)[JP/JP] 〒253-0084 神奈川県茅ヶ崎市円蔵一丁目5番44号 Kanagawa, (JP) 村上博司(MURAKAMI, Hiroshi)[JP/JP] 〒247-0055 神奈川県鎌倉市小袋谷二丁目5番1-305号 Kanagawa, (JP) | 河合俊和(KAWAI, Toshikazu)[JP/JP] 〒247-0055 神奈川県鎌倉市小袋谷二丁目5番1-304号 Kanagawa, (JP) 榎村 淳(KASHIMURA, Jun)[JP/JP] 〒144-0054 東京都大田区新蒲田二丁目22番3号 Tokyo, (JP) 清水健夫(SHIMIZU, Takeo)[JP/JP] 〒194-0032 東京都町田市本町田3549-3 藤の台団地2-27-501 Tokyo, (JP) 荒木誠一(ARAKI, Seiichi)[JP/JP] 〒300-0810 茨城県土浦市永国台1-35 Ibaraki, (JP) 鈴木 護(SUZUKI, Mamoru)[JP/JP] 〒303-0035 茨城県つくば市松代1丁目30番2-A101号 Ibaraki, (JP) (74) 代理人 弁理士 松井光夫(MATSUI, Mitsuo) 〒105-0003 東京都港区西新橋二丁目19番2号 西新橋YSビル3階 Tokyo, (JP) (81) 指定国 AU, US, 欧州特許 (DE, ES, FR, GB, IT, NL) 添付公開書類 国際調査報告書 | | | |
| (54) Title: PREVENTIVES/REMEDIES FOR INFECTION, ANTI-ENDOTOXIN AGENTS, VACCINE ADJUVANTS AND GROWTH PROMOTERS (54) 発明の名称 感染予防治療剤、抗エンドトキシン剤、ワクチンワクチンアジュバント剤および成長促進剤 (57) Abstract Preventives/remedies for infection, anti-endotoxin agents, vaccine adjuvants and growth promoters each containing as the active ingredient a sugar cane-origin extract which is safe and efficacious for humans and animals; and foods and feeds containing these products. <div style="text-align: center; margin-top: 100px;">8</div> | | | | |

(57)要約

ヒト又は動物において安全かつ有効である、甘蔗由来のエキスを有効成分とする感染予防治療剤、抗エンドトキシン剤、ワクチンアジュバント剤及び成長促進剤ならびに、これらの剤を含む食品および飼料。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

| | | | | | | | |
|----|--------------|----|---------|----|-------------------|----|------------|
| AE | アラブ首長国連邦 | DM | ドミニカ | KZ | カザフスタン | RU | ロシア |
| AL | アルバニア | EE | エストニア | LC | セントルシア | SD | スーダン |
| AM | アルメニア | ES | スペイン | LI | リヒテンシュタイン | SE | スウェーデン |
| AT | オーストリア | FI | フィンランド | LK | スリ・ランカ | SG | シンガポール |
| AU | オーストラリア | FR | フランス | LR | リベリア | SI | スロヴェニア |
| AZ | アゼルバイジャン | GA | ガボン | LS | レソト | SK | スロヴァキア |
| BA | ボスニア・ヘルツェゴビナ | GB | 英国 | LT | リトアニア | SL | シエラ・レオネ |
| BB | バルバドス | GD | グレナダ | LU | ルクセンブルグ | SN | セネガル |
| BE | ベルギー | GE | グルジア | LV | ラトヴィア | SZ | スワジランド |
| BF | ブルキナ・ファソ | GH | ガーナ | MA | モロッコ | TD | チャード |
| BG | ブルガリア | GM | ガンビア | MC | モナコ | TG | トーゴ |
| BJ | ベナン | GN | ギニア | MD | モルドヴァ | TJ | タジキスタン |
| BR | ブラジル | GW | ギニア・ビサウ | MG | マダガスカル | TZ | タンザニア |
| BY | ベラルーシ | GR | ギリシャ | MK | マケドニア旧ユーゴスラヴィア共和国 | TM | トルクメニスタン |
| CA | カナダ | HR | クロアチア | | | TR | トルコ |
| CF | 中央アフリカ | HU | ハンガリー | ML | マリ | TT | トリニダード・トバゴ |
| CG | コンゴ | ID | インドネシア | MN | モンゴル | UA | ウクライナ |
| CH | スイス | IE | アイルランド | MR | モリタニア | UG | ウガンダ |
| CI | コートジボアール | IL | イスラエル | MW | マラウイ | US | 米国 |
| CM | カメルーン | IN | インド | MX | メキシコ | UZ | ウズベキスタン |
| CN | 中国 | IS | アイスランド | NE | ニジェール | VN | ヴェトナム |
| CR | コスタ・リカ | IT | イタリア | NL | オランダ | YU | ユーゴスラビア |
| CU | キューバ | JP | 日本 | NO | ノルウェー | ZA | 南アフリカ共和国 |
| CY | キプロス | KE | ケニア | NZ | ニュージーランド | ZW | ジンバブエ |
| CZ | チェコ | KG | キルギスタン | PL | ポーランド | | |
| DE | ドイツ | KP | 北朝鮮 | PT | ポルトガル | | |
| DK | デンマーク | KR | 韓国 | RO | ルーマニア | | |

明細書

感染予防治療剤、抗エンドトキシン剤、ワクチンワクチンアジュバント剤
および成長促進剤

5

技術分野

本発明は、ヒト又は動物のための感染予防治療剤、抗エンドトキシン剤、ワクチンアジュバント剤及び成長促進剤に関する。

本発明はまた、ヒト又は動物の感染を予防治療する食品又は飼料に関する。

10 本発明はまた、ヒト又は動物のエンドトキシンによる疾患を予防治療する食品又は飼料に関する。

本発明はまた、ヒト又は動物のワクチンに関するアジュバント作用を有する食品又は飼料に関する。

本発明はまた、ヒト又は動物の成長を促進する食品又は飼料に関する。

15 技術背景

近年、免疫学の進歩により、ヒト及び動物の種々の疾患あるいは感染症の多くは、免疫機能の低下乃至は免疫機能の不全が原因と考えられるようになっている。

例えばヒトの場合、気管支喘息、アレルギー疾患、関節リウマチ、自己
20 免疫疾患、栄養障害、外科手術、高齢化、癌、臓器移植、妊娠等により多くの場合免疫機能が低下乃至は不全になり、呼吸器感染症、敗血症、尿路感染症等の感染症を併発する。従来、このような疾患や感染症に関しては各種抗生物質が投与されている。しかしながら、抗生物質は継続的に投与すると、耐性菌の発生により特定の抗生物質の効力が減弱して、最近クロ
25 ーズアップされている院内感染の問題も起きている。このようなことから抗生物質のみに依存するのではなく、その使用量を減らし、免疫機能そのものを高めることにより感染の予防治療を行う薬品もしくは食品の開発が望まれている。

一方、畜水産業界においては、家畜、家禽又は養殖魚を効率よく飼育するため

に、大規模飼育、過密飼育が行われているが、このような飼育形態が原因となる
ストレスや、幼若期における免疫不全により各種感染症が多発するという問題が
ある。その対策として病気の治療、予防のための抗生物質の大量投与が採用され
ている。しかし、抗生物質の大量投与を行うと、今度は抗生物質の残留や耐性菌
5 の増加、耐性菌による病気の発生により、より多くのまたは別の種類の抗生物質
を投与する必要があるが出てきている。

また、これまでに知られている感染予防治療剤は、一般に単一成分もしくは類
似構造を持つ複数の成分を有効成分とし、その成分を抽出、濃縮もしくは合成す
ることにより剤を得る。従って、その長期摂取あるいは多量摂取による副作用の
10 心配があった。

従来、免疫賦活作用を有し、感染を防御する物質がいくつか探索されている
。納豆菌、ビフィズス菌、クロストリジウムの一部の細菌についても免疫賦活作
用があることが知られている。また、卵白（特開平 3-251573 号公報）、
卵白、菌及びニンニクの 2 種以上の組み合わせ（特表平 8-509211 号公報
15 ）、刺梨、ヨモギ及びキャベツより選ばれる 1 種又は 2 種以上の組み合わせ（特
開平 6-116158 号公報）、甘草成分（特開平 9-143085 号公報）の
免疫賦活作用または感染防御作用が報告されている。

バガスは、椎茸、靈芝、フクロタケ、エノキダケ、マッシュルーム等のキノコ
の培地として用いることができることが知られている。また、担子菌の抽出物を
20 有効成分とした抗ウイルス剤（特開平 2-286623 号公報、特開平 4-66
536 号公報）、バガス及び米糠を含有する培地に椎茸菌を培養して得られた培
養物の水性抽出物から分画精製した抗ウイルス物質（特開平 5-4929 号公報
）が報告されている。

バガスを培地として担子菌を培養し、担子菌類が生産した多糖及びサイトカイ
25 ニン系活性物質を有効成分とする抗ウイルス剤が知られている（特開昭 55-1
57517 号公報）。ところが後に同じ発明者が、バガスに酵素を作用させて又
はバガスを煮沸して抽出した多糖及び水溶性リグニンの両者を必須の有効成分と
する抗動物ウイルス剤を特許出願した（特開昭 57-106624 号公報）。し
かし、酵素を作用させて抽出して得た分子量 10,000~50,000 の多糖

及び分子量 50,000～100,000 の水溶性リグニンを有効成分とする剤
についての実施例のデータは、上記特開昭 55-157517 号公報のデータと
同じである。バガスから煮沸抽出で得た成分についての抗ウイルス実験のデータ
は記載されていない（なお、後の無効審判の過程で、煮沸抽出についての抽象的
5 記述がすべて削除された）。従って、特開昭 57-106624 号公報の内容は
、特開昭 55-157517 号公報の内容と実質的に同じであり、それ以上の知
見を与えるものではない。このように、従来より椎茸、靈芝などの担子菌類を含
むキノコには様々な生理活性があることが知られており、健康食品素材として一
般的に用いられている。バガスを培地として培養したこれらのキノコの抽出物の
10 うち、抗ウイルス効果を有することが知られているものがあるが、このような抽
出のために担子菌の菌糸体あるいはキノコ、あるいはそれらが生成する酵素が必
須である。

さて、上記の通り感染症、特に細菌による感染症が発生すると、一般的に抗
生物質が投与される。このような場合、特に感染した細菌数が一定数以上に増加
15 した段階で抗生物質を投与すると、細菌が一気に死滅することにより、細菌の内
部に存在するエンドトキシンが宿主内に移動し、ショック症状（エンドトキシン
ショック）を起こす場合がある。また、抗生物質によるエンドトキシンの急激な
血中への移行以外の場合でも、細菌又はそのエンドトキシンが血中を循環し敗血
症や敗血症性ショックを引き起こす場合がある。このようなエンドトキシンによ
20 る疾患を予防又は治療するために、これまでいくつかの抗エンドトキシン剤が報
告されている。

抗エンドトキシン剤又はエンドトキシンによる疾患の治療法として、抗体を
使用する方法（特表昭 61-500355 号公報、特表平 4-506447 号公
報、特開平 2-104534 号公報、特開平 2-134329 号公報、特開平 6
25 -62844 号公報、特表平 6-501931 号公報など）があり、またトロン
ビン阻害剤であるヒルジンを利用する方法（特開平 6-165691 号公報）、
変性 C 反応性蛋白を利用する方法（特表平 7-501545 号公報）、1,4-
チアジン誘導体を使用する方法（特開昭 63-301876 号公報）、ヘテロ環
状誘導体を使用する方法（特開平 3-240779 号公報）、タウリンを有効成

分とする抗内毒素剤（特開平10-158158号公報）、新規化合物を使用する方法（特開平5-194470号公報）などが報告されている。

近年、ワクチンの添加物として免疫アジュバントが、ワクチンの抗原性増強に重要な役割を果たすものと注目されている。特に不活化ワクチンの場合には、効果の発現が不安定であるため、アジュバントの投与が不可欠なものとなっている。

現在、ヒトや動物の臨床の場で用いられているアジュバントは、ごま油、菜種油などの植物油、フロイントの完全アジュバント、フロイントの不完全アジュバント等の鉱物オイル、水酸化アルミニウム、硫酸アルミニウム等、いずれもワクチンと共に局所で使用されるものである。

従来、ワクチンアジュバント剤について、いくつかの研究がなされている。通常、アジュバント剤はワクチンと混合し、注射または経口により投与されるが、より安全で自然なアジュバント効果を期待するため、天然物起源の経口アジュバントに関するいくつかの報告がなされている。

経口アジュバント剤としては、小青竜湯を有効成分とするインフルエンザウイルスワクチンに対するアジュバント剤（特開平7-173069号公報）、NaFを有効成分とする鳥類用経口アジュバント（特開平10-59869号公報）、突然変異エンテロトキシンを有効成分とする経口アジュバント（特表平10-505059号公報）などが報告されている。また、植物由来のアジュバント剤としては、植物起源の脂肪油を含む特定の脂質エマルジョン系、精製無毒化エンテロトキシンおよびトレハロースジミコレートからなる多糖類ワクチン用アジュバント剤（特開昭63-22029号公報）、合成疎水性リポ多糖および植物起源の界面形成成分を含有するアジュバント組成物（特開平05-255117号公報）、アロエから抽出したアセマンナンをアジュバントとして含有するワクチン（特表平7-506565号公報）などが報告されている。

また、無毒化毒素（変異型コレラトキシン、変異型易熱性毒素）やサイトカインIL-12）を応用する研究も進められている（実験医学、17、p199、1999）。

また、畜水産業においては、家畜、魚介類およびエビを短期間に成長させ出

荷できるようにすること、及び通常は体が小さく虚弱なため出荷できる状態まで成長しないと考えられる虚弱な家畜及び魚介類を成長させ、生産効率を上げることが望まれている。このような生産効率の改善を目的として、飼料効率を上げて成長させること、飼料の嗜好性を向上させ本来家畜・魚介類等があまり好まない
5 が安価である飼料を有効な飼料として用いるようにすること、及び通常は育たないであろうと考えられる体が小さいことから虚弱である家畜・魚介類等を出荷できるまで成長させること等を目的とした研究が多数なされている。

従来、家畜の体重を増加させる方法として、大豆、トチュウ、ウコギ、動物胆を含有する動物飼料添加剤（特開平7-313070号公報）、ビール酵母と
10 エタノールの混合物を用いる方法（特開昭48-61266号公報）、抗生物質のマルチオマイシンを用いる方法（特開昭52-54013号公報）、チタン錯体を用いる方法（特開昭58-76050号公報）、グロブリン含有物を使用する方法（特開昭61-132143号公報）、カルバゼートを用いる方法（特開昭61-145156号公報）が報告されている。家畜の成長を促進させる方法
15 として、 β -フェネタノールアミン類を用いる方法（特開昭59-155343号公報）、上皮細胞成長因子を用いる方法（特開昭62-240625号公報）、モルホリン誘導体を用いる方法（特開平1-6262号公報）、ホルスコリンを用いる方法（特開平1-320956号公報）が報告されている。飼料要求率を減少させることにより家畜の体重増加効率を向上させる方法として、果実酢を
20 用いる方法（特開昭48-103364号公報）、ブタプロラクチンを用いる方法（特開平1-230531号公報）、溶菌酵素生成物とプロテアーゼを用いる方法（特開平2-207756号公報）が報告されている。家畜飼料の嗜好性を向上させることにより体重を増加させる方法として、ヘキサノール又はヘキサナールを用いる方法（特開平7-313067号公報）が報告されている。また、
25 下痢などの疾病を減少させることにより成長及び体重増加を効率化する方法として、フラクトオリゴ糖を用いる方法（特開昭60-34134号公報）、イヌロオリゴ糖を用いる方法（特開昭61-40754号公報）、ガラクトシル二糖を使用する方法（特開平4-360652号公報）、特定の β -1,3-グルカン
を主鎖とする多糖を使用する方法（特開平7-50999号公報）、また夾膜を

除去した菌体を有効成分とする体重増加及び免疫増強剤（特開平2-11519号公報）、スベリヒユを含有する飼料により免疫を増強させかつ体重を増加させる方法（特開平6-141784号公報）が報告されている。

5 感染予防治療効果、抗エンドトキシン効果、ワクチンアジュバント効果はどれも免疫に関連しているが、これらの作用機構は異なり、感染予防治療剤が必ずしも抗エンドトキシン剤あるいはワクチンアジュバント剤になりうるわけではない。感染予防治療効果は感染症を引き起こすウイルスや細菌に対する効果であり、細菌の産生するエンドトキシンに対する効果とは異なるものである。また、高い感染予防治療効果を有するものは、ワクチンの抗体価を上げる場合もあるが、
10 ワクチンと共存する場合に弱毒化ワクチンを攻撃し、ワクチンの効果をなくしてしまう場合もある。また、抗エンドトキシン効果とワクチンアジュバント効果は対象も作用機構も異なる効果である。従って、従来これらの効果を併せ持つ天然素材は報告されていなかった。

従来報告されてきた天然の感染予防治療剤および抗エンドトキシン剤は、効力
15 を示すには高濃度の経口投与が必要であったり、効力を発揮する添加量を食品や飼料に加えるとそれ自体の味、におい、風味が強く、食品や飼料の味やにおいに影響を与えたり、価格が上がるなどの理由で使用範囲が限られていた。従って、広範囲の食品や飼料に添加可能な味やにおいを有し、わずかな投与量で感染症の予防治療効果を示す、安価な天然素材が望まれている。従来報告されてきた天然
20 の感染予防治療剤及び抗エンドトキシン剤は、ある特定成分を有効成分とするものが多く、その長期摂取あるいは多量摂取による副作用の心配があった。このようなことから、わずかな投与量で感染症の予防治療効果を示す天然素材の中でも、複数の有効成分を含む、より天然に近いものが望まれている。

また、従来報告されてきたワクチンワクチンアジュバント剤としては、化合物
25 アジュバント、無機アジュバント、生物学的アジュバントなどがあり、これらは、精製された化合物、無機物、あるいは細菌の生産するエンテロトキシンやエンドトキシンなどを無毒化したものであった。従来用いられているアジュバントは、効果の発現が不安定であり、IgEを産生するという副作用が発現する場合もあった。しかし最近では、天然のより安全性の高いアジュバントを望まれるようになり

、また経口投与により効果が発揮されるものが特に望まれている。

- また、従来報告されてきた成長促進剤には化学物質を用いたもの、植物体又はその抽出物を用いたもの、酵母などの微生物を用いたもの、植物脱脂大豆などの廃棄物を用いたもの、酵素その他のタンパク質や細胞中に含まれる生理活性を持つ物質など様々なものがあつたが、安価で簡便に得られる天然素材の成長促進剤はほとんど存在しなかった。

本発明は、ヒト又は動物において安全かつ有効な、感染予防治療剤、エンドトキシンショックに対する予防治療剤（抗エンドトキシン剤）、ワクチンアジュバント剤、および成長促進剤を提供することを目的とする。

- 10 本発明はまた、このような感染予防治療剤、抗エンドトキシン剤、ワクチンアジュバント剤あるいは成長促進剤を含む食品または飼料を提供することを目的とする。

発明の開示

- 15 本発明者らは、上記の問題点に鑑み、ヒトあるいは動物に安全な、また低コストで製造できる感染予防治療効果、抗エンドトキシン効果、ワクチンアジュバント効果、あるいは成長促進効果を有する食品について鋭意検討を重ねてきたが、古来食品として使用されている甘蔗を処理して得られるエキ스가、細菌あるいはウイルス等に対する感染予防治療効果、抗エンドトキシン効果、ワクチンアジュバント効果、及び成長促進効果を発揮することを見出し、本発明を完成した。

すなわち本発明は、甘蔗由来のエキスを有効成分とする感染予防治療剤、抗エンドトキシン剤、ワクチンアジュバント剤、及び成長促進剤である。

- 25 本発明は特に、甘蔗汁、甘蔗の溶媒抽出液及び甘蔗由来の糖蜜より選ばれる原料を、固定担体を用いたカラムクロマトグラフィーで処理することにより得られる画分を有効成分とする感染予防治療剤、抗エンドトキシン剤、ワクチンアジュバント剤、及び成長促進剤である。

あるいは、本発明は、甘蔗由来のバガスを原料とし、水、親水性溶媒、またはこれらの混合液を用いて抽出して得られるエキスを有効成分とする感染予防治療剤、抗エンドトキシン剤、ワクチンアジュバント剤、及び成長促進剤である。

図面の簡単な説明

図 1 は、製造例 1 で行ったカラムクロマトグラフィーにおける溶出パターンを示す図である。

- 5 図 2 は、製造例 2 で行ったカラムクロマトグラフィーにおける溶出パターンを示す図である。

図 3 は、製造例 6 で行ったイオン交換樹脂を用いた分離により得た画分の吸光度、電気伝導度及び糖濃度を示すグラフである。

- 10 図 4 は、試験例 4 における製造例 3 のエキスのゲル濾過の溶出パターンを示すグラフである。

図 5 は、試験例 4 における製造例 5 のエキスのゲル濾過の溶出パターンを示すグラフである。

- 15 図 6 は、試験例 4 における分子量マーカーのゲル濾過の溶出パターンを示すグラフである。

発明を実施するための最良の形態

- 20 本明細書において、「感染予防治療剤」とは、細菌あるいはウイルスなどに対する感染を予防あるいは治療する効果を有するものである。そのような効果とは、具体的には、免疫調節効果による感染予防効果、その他の機構による感染を予防又は治療する効果を包含する。

- 25 また本明細書において、「抗エンドトキシン効果」とは、エンドトキシンによる疾患を予防治療する効果を包含し、エンドトキシンショックや敗血症による死亡を減少させる効果、及び歯周病細菌のエンドトキシンによる口腔疾患をも包含する。さらに、ラジカルスカベンジャーとしての効果や炎症性サイトカインの抑制効果も期待できる。

本明細書において、「ワクチンアジュバント作用」または「ワクチンアジュバント効果」とは、抗原の作用を高める効果で、免疫応答を増強する免疫促進効果である。具体的には、ワクチンを投与する前あるいは後の特定の期間に投与することにより、ワクチンの抗体価を上昇させ、ワクチンの投与効果を高める効果で

ある。

また本明細書において、「成長促進効果」とは、幼齢期のヒト又は動物の成長を促進する効果、及びやせたヒト又は動物の体重を増加させる効果を包含する。なお、本明細書においては、成長促進効果と体重増加促進効果とは特に区別せず

5、同義としている。

本発明において、動物とはヒト以外の脊椎動物を意味し、哺乳類、鳥類および魚類を含む。例えばウシ、ブタ、ウマ等の家畜、ニワトリ、ウズラ等の家禽、ハマチ、タイ、ヒラメ、フグ、カンパチ、アユ、ウナギ、マス、コイ、金魚等の魚類、イヌ、ネコ等のコンパニオン・アニマルが挙げられる。

10 本発明において、甘蔗由来のエキスとは、甘蔗を原料として得られたエキスである。

1 の実施態様においては、甘蔗由来のエキスは、甘蔗汁、甘蔗の溶媒抽出液および甘蔗由来の糖蜜より選ばれる原料（以下で、単に原料ということがある）を固定担体を用いたカラムクロマトグラフィーで処理して得られる画分である。さらに好ましくは、原料を、固定担体としての合成吸着剤を充填されたカラムに通液し、該合成吸着剤に吸着された成分を、水、メタノール、エタノールおよびこれらの混合物から選ばれる溶媒で溶出することによって得られる画分、あるいは原料を、固定担体としてのイオン交換樹脂が充填されたカラムでの親和力の差を利用したカラムクロマトグラフィー処理により分離して得られる画分のうち、波長 420 nm の光を吸収する画分である。波長 420 nm の光を吸収する画分を電気透析処理に付して塩分を低減、好ましくは塩分を除去することが好ましい。

従来、甘蔗由来の原料、中間製品及び製品の色価の評価は、波長 420 nm の光の吸光度により行われている。この吸光度は、サンプルの pH により若干影響されるので、通常、pH を中性付近に調整してから吸光度を測定している。本発明において、吸光度は、サンプルの pH を 6～8 の範囲に調整した後に測定されるものとする。実施例にあるように、得られた画分の凍結乾燥粉末 0.25 g を 0.5 mM リン酸バッファー（pH 7.5）で溶解して全量を 100 ml にし、1 cm セルを用いて波長 420 nm での吸光度を測定したとき、吸光度が 0.8 以上の画分に本発明の高い効果が認められる。しかし、波長 420 nm の吸光度

は甘蔗由来の色素の量を示す値であって有効成分自体の量を示す値であるかどうかは不明であること、また原料となる甘蔗の産地や種類により甘蔗自体に含まれる色素の絶対量が異なることから、異なる甘蔗に由来する種々のエキスの間で効果と吸光度が必ずしも比例関係にあるわけではない。1つの原料から得られる複数の画分の吸光度を測定し、相対的に吸光度が高い画分が本発明の画分である。

5 固定担体として合成吸着剤をカラムに充填してカラムクロマトグラフィーを行う場合は、本発明の効果の有効成分の合成吸着剤に対する親和性が非常に強いいため、原料をカラムに通液したとき有効成分が合成吸着剤に吸着される。その後、溶媒で溶出を行うと、合成吸着剤に吸着された成分が脱着され溶出される。一方、固定担体としてイオン交換樹脂を用いた場合には、本発明の効果の有効成分と樹脂との親和性は吸着ほど強いわけではない。有効成分とその他の成分のイオン交換樹脂に対する親和性の強さに差がある。原料をカラムに供給し、その後溶離液として水を流すことにより、有効成分とその他の成分の溶出速度の違いに基づいて両者を分離することができる。

15 あるいは、別の実施態様においては、甘蔗由来のエキ스는、甘蔗由来のバガスを水、親水性溶媒、およびこれらの混合液より選ばれた溶液で抽出することにより得られるエキスであり、更に好ましくは、甘蔗から糖汁を圧搾した残渣であるバガスを、水、親水性溶媒、及びこれらの混合物から選ばれる溶媒で抽出することにより得られるエキスである。

20 ここで、本発明における甘蔗汁は、甘蔗（サトウキビ）を圧搾して得られる圧搾汁、甘蔗を水で浸出して得られる浸出汁、または原糖製造工場における石灰処理した清浄汁、濃縮汁を包含する。

本発明における甘蔗の溶媒抽出液とは、甘蔗を汎用の有機溶媒で抽出した抽出液を濃縮、乾固後、水に再溶解した抽出液等を意味する。直上の有機溶媒としては、例えばメタノールやエタノールなどのアルコール類が挙げられ、これらを単独でも組み合わせて使用しても良い。さらに、これらの溶媒と水を組み合わせて使用しても良い。

本発明における甘蔗由来の糖蜜とは、結晶化工程で得られた砂糖結晶と母液の混合物を遠心分離にかけ、砂糖結晶と分離して得られる振蜜を意味し、例えば、

原糖製造工場における 1 番蜜、2 番蜜、製糖廃蜜、および精製糖製造工場における洗糖蜜、1～7 番蜜、精糖廃蜜等が挙げられる。また、これらの糖蜜を原料としてアルコール発酵を行った分離液のように、糖蜜を脱糖処理したものも同様に用いることができる。

- 5 また本発明において、バガスとは典型的には原糖工場における製糖過程で排出されるバガスをいう。なおここでいう原糖工場における製糖過程で排出されるバガスには、最終圧搾機を出た最終バガスだけではなく、第 1 圧搾機を含む以降の圧搾機に食い込まれた細裂甘蔗をも含む。好ましくは、原糖工場において圧搾工程により糖汁を圧搾した後に排出されるバガスを用いる。圧搾工程より排出されるバガスは、甘蔗の種類、収穫時期等により、その含まれる水分、糖分、及びその組成比が異なるが、本発明においては、これらのバガスを任意に用いる。また、原糖工場と同様に、例えば、黒糖工場において排出される甘蔗圧搾後に残るバガスを使用しても良い。あるいは、実験室レベルの小規模な実施では、甘蔗から糖液を圧搾した後のバガスを用いてもよい。
- 10 このような甘蔗由来のエキ스는、より具体的にはたとえば次のようにして得ることができる。
- 15 まず、カラムクロマトグラフィー処理により得る方法について述べる。

- 甘蔗汁、甘蔗の溶媒抽出液又は甘蔗由来の糖蜜（以下、単に原料ということがある）を、固定担体を充填したカラムに通液する。上記原料は、そのまま、又は
- 20 水で任意の濃度に調整して、用いることができる。なお異物除去のために、カラムで処理する前に、原料をろ過することが望ましい。ろ過の手法は特に限定されず、食品工業で広く使用されているスクリーンろ過、ケイソウ土ろ過、精密ろ過、限外ろ過等の手段を好ましく使用できる。

固定担体としては、合成吸着剤及びイオン交換樹脂が好ましい。

- 25 まず、固体担体として合成吸着剤を用いる方法の好ましい態様は、以下の通りである。合成吸着剤としては、好ましくは有機系樹脂を用いることができ、例えば、芳香族系樹脂、アクリル酸系メタクリル樹脂、アクリロニトリル脂肪族系樹脂等が使用できる。さらに好ましくは芳香族系樹脂であり、特に無置換基型の芳香族系樹脂が使用できる。合成吸着剤として、例えばスチレンージビニルベンゼ

ン系樹脂の芳香族系樹脂などが使用でき、芳香族系樹脂としては、例えば疎水性置換基を有する芳香族系樹脂、無置換基型の芳香族系樹脂、無置換基型に特殊処理を施した芳香族系樹脂等の多孔性樹脂が使用できる。より好ましくは無置換基型に特殊処理を施した芳香族系樹脂が使用できる。そのような合成吸着剤は市販

5 されており、例えばダイヤイオン（商標）HP-10、HP-20、HP-21、HP-30、HP-40、HP-50（以上、無置換基型の芳香族系樹脂、いずれも商品名、三菱化学株式会社製）；SP-825、SP-800、SP-850、SP-875、SP-70、SP-700（以上、無置換基型に特殊処理を施した芳香族系樹脂、いずれも商品名、三菱化学株式会社製）；SP-900

10 （芳香族系樹脂、商品名、三菱化学株式会社製）；アンバーライト（商標）として、XAD-2、XAD-4、XAD-16、XAD-2000（以上、芳香族系樹脂、いずれも商品名、株式会社オルガノ製）；ダイヤイオン（商標）SP-205、SP-206、SP-207（以上、疎水性置換基を有する芳香族系樹脂、いずれも商品名、三菱化学株式会社製）；HP-2MG、EX-0021（

15 以上、疎水性置換基を有する芳香族系樹脂、いずれも商品名、三菱化学株式会社製）；アンバーライト（商標）系として、XAD-7、XAD-8（以上、アクリル酸系エステル樹脂、いずれも商品名、株式会社オルガノ製）；ダイヤイオン（商標）HP1MG、HP2MG（以上、アクリル酸系メタクリル樹脂、いずれも商品名、三菱化学株式会社製）；セファデックス（商標）系としてLH20、

20 LH60（以上、架橋デキストランの誘導体、いずれも商品名、アマシャムファルマシア バイオテク株式会社製）などが挙げられる。中でも、SP-850が特に好ましい。

固定担体の量は、カラムの大きさ、溶媒の種類、固定担体の種類などによって変化する。原料の固形分に対して、0.01～5倍湿潤体積量が好ましい。

25 原料を上記カラムに通すことにより、原料中の本発明の効果を有する成分は固定担体に吸着され、蔗糖、グルコース、フラクトースおよび無機塩類の大部分がそのまま流出する。

固定担体に吸着された成分を、溶媒により溶出する。ここで、本発明の効果を有する成分を効率よく溶出するには、その前に残留する蔗糖、グルコース、フラ

- クトースおよび無機塩類を水洗により充分に洗い流すことが好ましい。これにより、吸着されている目的の効果を有する成分をより効率よく回収することができる。溶出溶媒は、水、メタノール、エタノール及びこれらの混合物から選ばれる。溶出溶媒は水とアルコールの混合溶媒、特にエタノール-水混合溶媒が好ましく、更に、室温において効率よく目的の効果を有する成分を溶出できるので、50/50~60/40（体積/体積）エタノール-水混合溶媒が好ましい。更に、カラム温度を上げることにより、エタノール-水混合溶媒のエタノール混合比を減らすことができ、目的とする本発明の効果を有する成分を溶出することができる。この場合、カラム内は常圧もしくは加圧された状態である。このように、
- 5 本発明の効果を有する成分は、前記溶媒で溶出される画分に存在する。溶出速度はカラムの大きさ、溶媒の種類、固定担体の種類等によって変化するので特に限定されないが、 $SV = 0.1 \sim 10 \text{ hr}^{-1}$ が好ましい。なお、SV（Space Velocity、空間速度）は、1時間あたり樹脂容積の何倍量の液体を通液するかという単位である。
- 15 前記本発明の効果を有する成分は、好ましくは次のようにして得ることができ、しかし下記に限定されない。すなわち、原料の固形分に対して0.01~5倍湿潤体積量の無置換基型の芳香族系樹脂を充填したカラムに、カラム温度60~97℃にて原料を通液した後、カラム内を水洗し、次いでカラムに吸着されている成分を、カラム温度20~40℃にて50/50~60/40（体積/体積）
- 20 エタノール-水混合溶媒で溶出させ、溶出開始時点から集めた溶出液の量が前記樹脂の4倍湿潤体積量以内に溶出する画分を回収する。

一方、固定担体としてイオン交換樹脂を用いる方法の好ましい態様は、以下の通りである。

- イオン交換樹脂は、イオン交換の性質の観点から、陽イオン交換樹脂と陰イオン交換樹脂とに分類されるが、本発明では好ましくは陽イオン交換樹脂が使用できる。さらに好ましくは強酸性型、ナトリウムイオン型またはカリウムイオン型の陽イオン交換樹脂が使用できる。またイオン交換樹脂は、樹脂の形態の観点からは、ゲル型樹脂と、ポーラス型、マイクロポーラス型、ハイポーラス型などの多孔性樹脂とに分類されるが、本発明では好ましくはゲル型のイオン交換樹脂が
- 25

使用できる。さらに好ましくは、強酸性型、ナトリウムイオン型またはカリウムイオン型であるゲル型の陽イオン交換樹脂が使用できる。そのようなイオン交換樹脂は市販されており、例えばダイヤイオン（商標）系としてSK1B、SK104、SK110、SK112、SK116（いずれも商品名、三菱化学株式会社）、UBK530、UBK550（クロマト分離用、いずれも商品名、三菱化学株式会社）、アンバーライト（商標）系として、アンバーライトIR120B、IR120BN、IR124、XT1006、IR118、アンバーリスト31、クロマトグラフ用アンバーライトCG120、CG6000（いずれも商品名、オルガノ株式会社）、ダウエックス（商標）系として、HCR-S、HCR-W2、HGR-W2、モノスフィア-650C、マラソンC600、50W×2、50W×4、50W×8（いずれも商品名、ダウ・ケミカル日本株式会社）、ムロマック50WX（商品名、室町化学工業株式会社）、ピュロライト（商標）系として、C-100E、C-100、C-100×10、C-120E、PCR433、PCR563K、PCR822、PCR833、PCR866、PCR883、PCR892、PCR945（いずれも商品名、エイエムピー・アイオネクス株式会社）等が挙げられる。中でも、UBKシリーズが特に好ましい。

固定担体の量は、カラムの大きさ、固定担体の種類などによって変化する。原料の固形分に対して、好ましくは2～10、000倍、より好ましくは5～500倍湿潤体積量である。

原料を上記カラムに通し、次に溶離液として水を用いてクロマトグラフィ処理し、得た多数の画分のうち波長420nmの光を吸収する画分を分取して目的とするエキスを得ることができる。以下において、この方法をイオンクロマト分離と言うことがある。

通液条件は、原料の組成および固定担体の種類などによって変化する。溶離液として脱気処理した水を用い、単塔式回分分離法の場合、流速は $SV = 0.3 \sim 1.0 \text{ h}^{-1}$ 、サンプルの供与量は樹脂の1～20%、温度は40～70℃が好ましい。この分離法により得た画分の夫々について、波光420nmでの吸収、電気伝導度（塩分の量の尺度）、蔗糖、ブドウ糖及び果糖の濃度を分析し、時

系列的にグラフに表すと、波長 420 nm での光吸収のピーク、電気伝導度のピーク、蔗糖および還元糖のピークの順にピークが現れる。後記の図 3 における画分 3 ~ 14 に相当する画分を、波長 420 nm の光を吸収する画分として分取する。特に画分 3 ~ 8 が好ましい。画分 3 ~ 8 を包含する非蔗糖画分全体（画分 1 ~ 9 と画分 18 ~ 30 をあわせたもの）は、有効成分の濃度はより低い、同様にこれを本発明のエキスとして使用することができる。擬似移動床式連続分離法の場合、原料液供給量、溶離液流量、各画分抜き出し流量を原料の組成、固定担体の種類、樹脂量に合わせて設定するため、一般的な通液条件を示すことができない。

10 原糖工場において 2 番蜜を原料として擬似移動床式連続分離法により得られる本画分の組成は、原料の種類およびイオン交換樹脂の分離能により変化するが、固形分当たりの蔗糖が 6 % 以下、非糖分が 90 % 以上、見掛純糖率が 10 % である。見掛純糖率は、固形分（ブリックス：Bx.）当たりの糖度（検糖計で測定した純蔗糖規定量に対する直接旋光度）の百分率である。

15 また、単塔式回分分離法により得られる本画分は、2 番蜜を原料として得られた画分の場合、固形分（凍結乾燥乾燥固形分）当たりのポリフェノール量が約 5 %、電気伝導度塩分が約 44.7 %、糖分は約 5 % である。

本発明の効果の有効成分である物質は、波長 420 nm の吸収のピーク部分の画分に多く含まれることは明らかであるが、有効成分自体が 420 nm の吸収をもつかどうかは現在のところ明らかではない。

さらに、上記波長 420 nm で吸収を示す画分あるいは非蔗糖画分に電気透析処理を行って、含有される塩分を減少または除去することができる。イオン交換樹脂を用いたカラムクロマトグラフィーにより得られる本画分は、塩濃度が高く、乾燥固形分当たりの硫酸灰分で約 40 % である。そのため、塩の味が強く、非常にしょっぱい味がするため、食品の味に影響を及ぼす。また、ヒトにおいては塩の取り過ぎは健康に害を及ぼすため、ヒトが摂取するためには塩類の濃度を低減させる必要がある。動物においてもヒトと同様に健康に影響を及ぼすため摂取できる塩類の濃度に限界がある。特に家畜においては、各種の塩類の摂取量が定められており、配合飼料などはそれに合わせた塩濃度に調整されている。従って

、家畜に甘蔗由来のエキスを摂取させようとする場合には、低い塩濃度である方が使用しやすい。このようなことから、得られる画分の塩濃度を低減させることが好ましい。

電気透析による脱塩処理では陽イオンについてはナトリウムイオン、カリウムイオン、カルシウムイオン、マグネシウムイオンなどが、イオンの種類に関わらず、ほぼ均等に脱塩される。陰イオンについては塩素イオンおよび硫酸イオンのうち塩素イオンが選択的に脱塩され、硫酸イオンはあまり脱塩されないことが知られている。陰イオンの除去率と同等の割合で陽イオンが除去される。

次に、バガスを抽出することにより甘蔗由来のエキスを得る方法について述べる。

バガスを、水、親水性溶媒、これらの混合物からなる群より選択される溶媒で抽出することによって、バガス抽出物が得られる。親水性溶媒としては、例えばメタノール、エタノール等の低級アルコール類、アセトンなどのケトン類、酢酸メチルや酢酸エチル等の酢酸エステル類等を用いることができる。親水性溶媒としてはエタノールが好ましい。抽出のための好ましい溶媒は、60/40体積比以下の比で、より好ましくは50/50体積比以下の比エタノールを含むエタノール-水混合溶媒である。抽出温度は、効率よく抽出するためには、50～100℃が好ましい。また、抽出時間は、バガスの原料、種類、状態などによっても異なってくるが、通常1～3時間である。また抽出方法は、一般的な汎用性のある方法が使用でき、例えばバガスと抽出溶媒を共に容器に入れて抽出する方法、抽出溶媒を循環させて抽出する方法、連続的に抽出する方法、例えば、デスメット式抽出機、ルルギ式抽出機等を任意に使用することができる。バガスから抽出したエキスは糖含量が多いので、バガスエキスを上記と同様のカラムクロマトグラフィー処理に付すことにより糖を除去してもよい。

上記の様に甘蔗から種々の方法で得られたエキスを、慣用の手段（減圧下での溶媒除去、凍結乾燥など）により濃縮して、本発明の効果を有する成分を得ることができる。このようにして得られた本発明の効果を有する成分は、固形分20%以上に濃縮した液状又は粉末状で保存することができる。保存は、特に液状の場合、冷蔵保存が好ましい。

後述の試験例 4 で示されるように、本発明の甘蔗由来のエキスは、単一ではなく複数の本発明における有効成分を含み、その製造方法によりエキス中に濃縮される有効成分の組成は異なっている。

5 これまでに知られているような感染予防治療剤は、一般に単一成分もしくは類似の複数成分を有効成分とするため、その長期摂取あるいは多量摂取による副作用の心配があった。しかし、本発明の甘蔗由来のエキスは分子量的にかなり広範囲の多数成分を含むため、より自然な感染予防治療剤であると言える。

本発明の甘蔗由来のエキスは、マウスを用いた甘蔗由来のエキスの経口投与による動物実験の結果、細菌、ウイルスに対する感染予防治療効果を示した（後述
10 の実施例 1～4）。よって本発明における甘蔗由来のエキスは免疫の機能を調節することにより感染防御作用を示すことと考えられる。

従って本発明は、ヒトあるいは動物などの免疫機能を調節することにより、各種の免疫機能低下乃至は不全による疾患の予防、治療のために使用できる。または、各種感染症に対する予防、治療のために使用できる。

15 このような疾患は特に限定されるものではないが、例えばヒトの場合、関節リウマチ、糸球体腎炎、溶血性貧血、気管支喘息、ベーチェット病、橋本病、多発性筋炎、全身性エリテマトーデス、全身性進行性硬化症または一部の腫瘍等の自己免疫疾患、全身、呼吸器、尿路、腸管、腹腔内、粘膜、皮膚、髄腔または循環器における感染症、栄養障害児、加齢、抗癌剤投与時または外科的侵襲時等における各種感染症をあげることができる。動物の場合、例えば、ブタの下痢、流行性肺炎、伝染性胃腸炎等、ニワトリの肺炎、マレック病、ウシの下痢、肺炎、乳房炎、ネコ免疫不全症候群及び白血病などを挙げることができる。さらに、本発明の適用される養殖魚の感染症も特定されないが、例えば、連鎖球菌、類結節症等の細菌感染症、ウイルス感染症等広範である。

25 感染症の例として、細菌性疾患としては、ヒトのサルモネラ症 (*Salmonella enteritidis*、*S. dublin* 等)、腸炎ビブリオ (*Vibrio parahaemolyticus*)、腸チフス (*Salmonella typhi*)、病原性大腸菌感染症 (*Escherichia coli*)、結核 (*Mycobacterium tuberculosis*)、細菌性赤痢 (*Shigella dysenteriae*、*S. flexneri* 等)、百日咳 (*Bordetella pertussis*)、ジフテリア (*Corynebacterium diphtheriae*)、ハ

ンセン氏病(*Mycobacterium leprae*)、ペスト(*Yersinia pestis*)等が、ウシの乳房炎(*Staphylococcus aureus*、*Klebsiella pneumoniae*、*Streptococcus agalactiae*、*Actinomyces pyogenes*等)、ブルセラ病(*Brucella abortus*)、カンピロバクター症(*Campylobacter fetus*)、炭疽(*Bacillus anthracis*)、ヨーネ病(*Mycobacterium avium*)、ウシ伝染性角結膜炎(*Moraxella bovis*)、輸送熱(*Pasteurella multocida* および *Pasteurella haemolytica*)、趾間腐爛(*Fusobacterium necrophorum*)等が、ウマの鼻疽(*Bordetella mallei*)、ウマ伝染性子宮炎(*Taylorella equigenitalis*)、回帰熱(*Borrelia theileri*)等が、ブタの萎縮性鼻炎(*Bordetella bronchiseptica*)、豚丹毒(*Erysipelothrix rhusiopathiae*)、グレーサー病(*Haemophilus parasuis*)等が、ニワトリのひな白痢(*Salmonella pullorum*)、家禽コレラ(*Pasteurella multocida*)、伝染性コリーザ(*Haemophilus paragallinarum*)、非定型抗酸菌症(*Mycobacterium avium*)等が、イヌのレプトスピラ病(*Leptospira canicola*)、破傷風(*Clostridium tetani*)等が、魚類の連鎖球菌症(*Enterococcus seriolicida*)、類結節症(*Pasteurella piscicida*)、ビブリオ病(*Vivrio anguillarum*)、パラコロ病(*Edwardsiella tarda*)、冷水病(*Flavobacterium psychrophilus*)、レッドマウス病(*Yersinia ruckeri*)、尾ぐされ病(*Aeromonas hydrophila*)、ノカルジア症(*Nocardia asteroides*、*Nocardia seriolae*)等があげられる。

ウイルス性疾患としては、ヒトのインフルエンザ(*Human influenza virus*)、帯状疱疹(*Human herpesvirus 3*)、免疫不全症候群(*Human immunodeficiency syndrome virus*)、灰白性随炎(*Polio virus*)、風疹(*Rubella virus*)、麻疹(*Measles virus*)、痘瘡(*Variola virus*)、日本脳炎(*Japanese encephalitis virus*)、流行性耳下腺炎(*Mumps virus*)、エボラ出血熱(*Ebola virus*)、デング熱(*Dengue virus*)、マールブルグ病(*Marburg virus*)、リンパ球性脈絡髄膜炎(*Lymphocytic choriomeningitis virus*)、成人T細胞白血病(*Human T-lymphotrophic virus*)、黄熱(*Yellow fever virus*)等が、ウシのウシ伝染性鼻気管炎(*Bovine herpesvirus 1*)、ウシ口蹄疫(*Foot-and-mouth disease virus*)、ウシ流行熱(*Bovine ephemeral fever virus*)、牛痘(*Cowpox virus*)、アカバネ病(*Akabane virus*)、イバラキ病(*Ibaraki virus*)、ブルータング(*Bluetongue virus*)、輸送熱(*Bovine parainfluenza virus*)、リフトバレー熱(*Rift Valley fever virus*)等が、ウマのウマ伝染性

貧血(Equine infectious anemia virus)、ウマ動脈炎(Equine arteritis virus)、ボルナ病(Borna virus)、ウマ鼻肺炎(Equid herpesvirus 4)、東部ウマ脳炎(Eastern equine encephalitis virus)等が、ブタのブタ伝染性胃腸炎(Porcine transmissible gastroenteritis virus)、生殖器呼吸器症候群(Porcine reproductive and respiratory syndrome virus)、オーエスキー病(Pseudorabies virus)、豚コレラ(Hog cholera virus)、ブタ水胞病(Swine vesicular disease virus)、ブタ封入体鼻炎(Suid herpesvirus 2)等が、ニワトリの伝染性ファブリキウス嚢病(Infectious bursal disease virus)、ニューカッスル病(Newcastle disease virus)、鶏痘(Fowlpox virus)、マレック病(Marek's disease virus)、伝染性喉頭気管炎(Infectious laryngotracheitis virus)、ニワトリ伝染性気管支炎(Avian infectious bronchitis virus)等が、イヌの狂犬病(Rabies virus)、ジステンパー(Canine distemper virus)、伝染性肝炎(Canine adenovirus 1)、パルボウイルス感染症(Canine parvovirus)等が、ネコのネコ白血病(Feline leukemia virus)、ネコ免疫不全症候群(Feline immunodeficiency virus)、ネコ伝染性腹膜炎(Feline infectious peritonitis virus)、汎白血球減少症(Feline panleukopenia virus)等が、魚類のイリドウイルス感染症(Flounder virus)、伝染性造血器壊死症(Infectious haematopoietic necrosis virus)、伝染性脾臓壊死症(Infectious pancreatic necrosis virus)、フグ口白症(未同定)等が挙げられる。真菌性疾患としては、ヒトのコクシジオイデス症(Coccidioides immitis)、ヒストプラズマ症(Histoplasma capsulatum)等が、ウシの乳房炎(Candida tropicalis)、流産(Aspergillus fumigatus)、皮膚糸状菌症(Trichophyton verrucosum)、ムコール症(Mucor racemosus)等が、ウマの喉嚢真菌症(Aspergillus nidulans)、伝染性リンパ節炎(Histoplasma farciminosum)、ウマ白癬菌症(Trichophyton equinum)等が、ニワトリのそ嚢炎(Candida albicans)、アスペルギルス肺炎(Aspergillus fumigatus)等が、イヌのブラストミセス症(Blastomyces dermatitidis)、皮膚糸状菌症(Microsporum canis)、リンパ節炎(Histoplasma capsulatum)、マラセチア症(Malassezia pachydermatis)等が、魚類の水カビ病(Saprolegnia parasitica)、内臓真菌症(Saprolegnia diclina)、真菌性肉芽腫症(Aphanomyces piscicida)、ピチュウム症(Pythium gr

acile)、鼓脹症(*Candida sake*)等が挙げられる。また、マイコプラズマによる感染症として、ウシの牛肺疫(*Mycoplasma mycoides*)、マイコプラズマ性乳房炎(*Mycoplasma bovis*)等が、羊の伝染性無乳症(*Mycoplasma agalactiae*)等が、ブタのブタ流行性肺炎(*Mycoplasma hyopneumoniae*)等が、ニワトリの慢性上部気
5 道炎(*Mycoplasma gallisepticum*)等が挙げられる。リケッチアによる感染症として、ヒトの発疹チフス(*Rickettsia prowazekii*)、Q熱(*Coxiella burnetii*)、ネコ引っ掻き病(*Bartonella henselae*)等が、ウシの出血熱(*Ehrlichia ondiri*)等が、ウマのポトマック熱(*Ehrlichia risticii*)等が、イヌのイヌエールリキア病(*Ehrlichia canis*)等が挙げられる。クラミジアによる感染症として、ヒトのオ
10 ウム病(*Chlamidia psittaci*)等が、ウシの流行性ウシ流産(*Chlamydia psittaci*)、散発性ウシ脳脊髄炎(*Chlamydia pecorum*)等が、羊の伝染性漿膜炎(*Chlamydia pecorum*)、クラミジア多発性関節炎(*Chlamydia pecorum*)等が、ネコのクラミジア肺炎(*Chlamydia psittaci*)等が挙げられる。

実験動物の静脈にエンドトキシンを直接投与し、その1日前及び6時間後の2
15 回、甘蔗由来のエキスを経口投与するというエンドトキシンモデルで、本発明の甘蔗由来のエキスは、有意な生存率の上昇を示した。従って、甘蔗由来のエキスそのものまたはその代謝産物が、血中に存在するエンドトキシンに直接作用して分解、凝集、その他の状態の変化を起こさせ中和する、エンドトキシンによる補体の過剰な活性化を抑制する、ラジカルスカベンジャーとして作用する、炎症性
20 サイトカインを抑制する、またはその他の何らかの機構によってエンドトキシンの効力を低減させるなど、何らかの方法で抗エンドトキシン効果を発現すると考えられる。従って本発明の甘蔗由来のエキスはエンドトキシンが原因となる疾患の予防治療のために使用できる。このような疾患は特に限定されるものではないが、例えば、エンドトキシンが細菌からヒトの血中に放出され、発熱、悪寒、嘔
25 吐、意識障害などの重篤な全身症状が見られる敗血症やエンドトキシンショック、歯周病細菌のエンドトキシンによる口腔疾患等が挙げられる。また、このようなエンドトキシンを有する細菌として、大腸菌、肺炎桿菌、プロテウス、緑膿菌、エンテロバクターなどのグラム陰性細菌が挙げられる。

また、本発明の甘蔗由来のエキスは、実施例で説明するようにワクチンアジュ

バント作用及び成長促進作用を有する。

本発明に係る感染予防治療剤、抗エンドトキシン剤及び成長促進剤の投与時期は、特に限定されない。本発明に係るワクチンアジュバント剤の投与時期は、ワクチンの投与前、投与と同日、投与日後のいずれでもよく特に限定されない。

- 5 通常はワクチン投与日および／または投与日後である。さらに、ワクチン投与前に投与することによって、より確実な効果を期待することができる。投与回数は1回以上であればよく、ワクチン投与前に1日～1週間程度、特にワクチン投与後には1～2週間程度、連続または間欠投与することが好ましく、さらに、引き続き1～6ヵ月連投しても差し支えない。

- 10 本発明の感染予防治療剤、抗エンドトキシン剤、ワクチンアジュバント剤、および成長促進剤の投与量は、甘蔗由来のエキスの精製度、形態、対象とする動物の種類、健康状態、成長の度合い等によって異なるので特に限定されないが、例えば後述の製造例1乃至7で得た甘蔗由来のエキス粉末の場合には、体重1kg当たり1日に1～1000mg、好ましくは50～1000mgである。

- 15 本発明に係る甘蔗由来のエキスの投与形態は特に限定されないが、例えば経口的、静脈内、筋肉内、皮下、皮内、腹腔内、直腸内、舌下、経皮、点眼などの方法で投与することにより、感染予防治療効果、抗エンドトキシン効果、ワクチンアジュバント作用、及び成長促進効果を発揮する。

- 20 本発明に係る甘蔗由来のエキスを投与する際のエキスの形状は特に限定されず、液状または粉末形状のエキスをそのまま投与してもよく、また通常用いられる製剤用担体によって、公知の方法により固形剤とすることも液剤とすることもでき、また、製剤化の有無にかかわらず食品、飼料、飲水等に混合することもできる。

- 25 経口用固形製剤を調製する場合には、エキスを賦形剤、結合剤、粘結剤、崩壊剤、滑沢剤、着色剤、矯味矯臭剤、抗酸化剤、溶解補助剤などを加えた後、常法により錠剤、被覆錠剤、顆粒剤、散剤、カプセル剤などとする。

上記賦形剤としては、例えばデンプン、コーンスターチ、デキストリン、小麦粉、小麦ミドリング、ふすま、米ぬか、米ぬか油かす、大豆かす、大豆粉、大豆油かす、きな粉、ブドウ糖、乳糖、白糖、マルトース、植物油、動物油、硬化油

、高級飽和脂肪酸、その他の脂肪酸、酵母、マンニトール、結晶セルロース、二酸化珪素、無水珪素、珪酸カルシウム、珪酸、リン酸一水素カルシウム、第二リン酸カルシウム、リン酸三カルシウム、リン酸カルシウム、リン酸第二水素カルシウムなどが用いられる。

5 結合剤としては、例えばポリビニルピロリドン、エチルセルロース、メチルセルロース、アラビアゴム、トラガント、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、アルギン酸ナトリウム、カゼインナトリウム、カルボキシメチルセルロースナトリウム、プロピレングリコール、ポリアクリル酸ナトリウムなどが用いられる。

10 滑沢剤としては、例えばステアリン酸マグネシウム、タルク、ステアリン酸などが用いられる。

着色剤、着色料としては医薬品、食品、飼料に添加することが許可されているものであればよく、特に限定されない。

15 抗酸化剤としては、例えばアスコルビン酸、 α -トコフェロール、エトキシキン、ジブチルヒドロキシトルエン、ブチルヒドロキシアニソール等が挙げられ、医薬品や食品、飼料に添加することが許可されているものであればよい。また、錠剤、顆粒剤は必要に応じてコーティングすることは差し支えない。

20 注射製剤を製造する場合には、必要に応じて主薬にpH調整剤、緩衝剤、懸濁化剤、溶解補助剤、安定化剤、等張化剤、抗酸化剤、保存剤などを添加し、常法により製造することができる。この際必要に応じ、凍結乾燥剤とすることも可能である。この注射剤は静脈内、皮下、筋肉内等に投与することができる。

25 懸濁化剤としては例えば、メチルセルロース、ポリソルベート80、ヒドロキシエチルセルロース、アラビアゴム、トラガント末、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレートなどを挙げることができる。

溶解補助剤としては、例えばポリオキシエチレン硬化ヒマシ油、ポリソルベート80、ニコチン酸アミド、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレートなどが用いられる。

保存剤としては、例えばパラオキシ安息香酸メチル、パラオキシ安息香酸エチ

ル、ソルビン酸などが用いられる。

本発明はまた、前記した感染予防治療剤、抗エンドトキシン剤、ワクチンアジュバント剤及び成長促進剤を含む食品および飼料を提供する。食品および飼料は固体でも液体でもよい。食品としては、たとえば菓子類、清涼飲料、機能性調味料、健康食品等が挙げられる。飼料としては、たとえばドッグフード、キャット
5 フードなどのペット用飼料、家畜用飼料、養殖魚介類用飼料等が挙げられる。

実施例

以下、実施例を挙げて本発明をより具体的に解説する。実施例で使用する物質
10 の投与量に関する記載、例えば「 10 mg/kg 」または「 10 mg/kg 体重」は、体重 1 kg 当たり 10 mg を投与したという意味である。

製造例 1

原糖製造工場の製造工程にて得られた甘蔗の圧搾汁（固形分 18.8% ） 650 リットルを、ジュースヒーターで 80°C に加温し、管型限外ろ過（MH-25
15 型、有効膜面積 $2\text{ m}^2 \times 3$ 本、分画分子量 10 万、ダイセル化学工業株式会社製）でろ過処理して、約 600 リットルの処理液を得た。

合成吸着剤 SP-850（商品名、三菱化学株式会社） 15 リットルを、ウォータージャケット付きのカラム（カラムサイズ：内径 17.0 cm 、高さ 100 cm ）に充填し、これに前記の圧搾汁ろ過処理液を、流速 30 リットル/時間（ $SV = 2\text{ hr}^{-1}$ ）の速度で通液した。なお、圧搾汁ろ過処理液通液中は、ウォータージャケットには、 65°C の水を常に循環させた。次に、 45 リットルのイオン交換水を、流速 30 リットル/時間（ $SV = 2\text{ hr}^{-1}$ ）でカラムに通液して洗浄した。イオン交換水で洗浄後、カラムから溶出した画分について糖類の検出を行ったところ、ハンドレフブリックス（Bx）計（アタゴ株式会社製、N-
20 1E型）において、Bxが約 0 になっているのを確認した。その後、溶出溶媒として 55% エタノール-水混合溶媒（エタノール/水 = $55/45$ （体積/体積））を流速 30 リットル/時間（ $SV = 2\text{ hr}^{-1}$ ）にてカラムに通液して、合成吸着剤に吸着した成分を溶出させた。なお、溶出溶媒通過中は、ウォータージャケットには、 25°C の水を常に循環させた。カラム溶出液は 5 リットルずつ分

取した。溶出パターンを図1に示す(①:圧搾汁ろ過処理液の通液開始時点、②:イオン交換水での洗浄開始時点、③:55%エタノール-水混合溶媒での溶出開始時点)。図において黒丸は、各画分の420nmの光の吸光度を示し、白角は各画分の糖度を示す。55%エタノール-水混合溶媒でカラムから溶出した画分(図1においてAの部分)を、濃縮機にて約20倍程度に減圧濃縮した後、1晩凍結乾燥して、茶色の粉末(甘蔗由来のエキス)460gを得た。

製造例2

原糖製造工場の製造工程にて得られた清浄汁(固形分11.7%)600リットルをそのまま限外ろ過処理せずに使用した以外は製造例1と同様にして、カラム処理を行った。このときの溶出パターンを図2に示す(①:圧搾汁ろ過処理液の通液開始時点、②:イオン交換水での洗浄開始時点、③:55%エタノール-水混合溶媒での溶出開始時点)。図2において、Bの画分を分取し、減圧濃縮した後、1晩凍結乾燥して、225gの茶褐色の粉末(甘蔗由来のエキス)を得た。

15 製造例3

原料糖製造工場で作られた乾燥バガス1kgをナイロンネット製の袋に入れ、袋ごとタンクに入れ、80℃の水を25リットル添加し、1時間攪拌抽出した。得られた抽出液をコットンフィルターで濾過し、異物を除去した。濾液を遠心式薄膜濃縮機で減圧濃縮した後、1晩凍結乾燥して、26.31gの茶褐色の粉末(甘蔗由来のエキス)を得た。

製造例4

原料糖製造工場で作られた乾燥バガス350gをナイロンネット製の袋に入れ、50/50体積比のエタノール/水の5250mlを添加し、室温で2時間攪拌抽出した。得られた抽出液をアドバンテック東洋株式会社No.2濾紙で濾過し、異物を濾過した。濾液をエバポレーターで減圧濃縮した後、一晩凍結乾燥して、6.72gの茶褐色の粉末(甘蔗由来のエキス)を得た。

製造例5 (イオン交換樹脂を用いた擬似移動床式カラムクロマトグラフィーによる分離)

原糖工場において、結晶缶にて2回蔗糖結晶を回収し、遠心分離により結晶を

除いた振蜜である 2 番蜜を原料として、陽イオン交換樹脂を充填した分離塔を用いた擬似移動床式連続分離法により、イオン交換カラムクロマト分離を行った。

原料の調製からイオン交換クロマト分離までの工程は連続的に行われるため、各工程の液の固形分濃度や組成は時間と共に若干変動するが、以下の濃度や組成は定常運転における測定値である。

2 番蜜はブリックス (B x.) が約 85 であった。この濃度はカラムクロマト処理を行うには高いため、ブリックス約 50 に希釈した。これに、消石灰、炭酸ソーダを添加し不純物を凝集させ、珪藻土濾過を行った。得られた濾液は、ブリックス 47.3、糖度 (P o l.) 23.6、純糖率 (P u r i t y) 49.9、還元糖分 2.5% であった。濾液をイオン交換クロマトグラフィーの原料として用いた。

陽イオン交換樹脂として U B K 530 (三菱化学株式会社) を用いた擬似移動床式連続分離法によるイオン交換クロマトグラフィーを行った。樹脂を充填した分離塔は 8 分割されており、1 塔当たりの樹脂量は 6.5 m^3 である。原料液と溶離液 (水) の供給、および蔗糖画分と非蔗糖画分の抜き出し位置を一定時間毎に切り替えることにより、連続的に供給、抜き出しを行った。定常時の既定値は、供給流量 $3 \text{ m}^3/\text{時間}$ 、溶離水流量 $13.5 \text{ m}^3/\text{時間}$ 、非蔗糖画分抜き出し流量 $12.13 \text{ m}^3/\text{時間}$ 、蔗糖画分抜き出し流量 $4.37 \text{ m}^3/\text{時間}$ 、切り替え時間 267 秒であった。このクロマトグラフィー処理により、蔗糖画分と非蔗糖画分が分離された。これらは夫々、後述の図 3 における画分 10~17、及び画分 1~9 と画分 18~30 とを合わせたものに相当する。蔗糖画分は蔗糖が固形分当たり約 87% (H P L C 分析による) でブリックスは約 35 であり、この画分は清浄汁と混合して本工程に戻され、再び蔗糖を回収する操作を行った。また、得られた非糖画分は、蔗糖分が約 0.3% (H P L C 分析による) でブリックスが約 8 であった。この非糖画分を濃縮缶により濃縮し、ブリックス 40.0、糖度 (P o l.) 2.3、純糖率 (P u r i t y) 5.8、還元糖分 5.4% とした。この非蔗糖画分を、後の試験に用いるため一晩、凍結乾燥処理に付した。得られた凍結乾燥粉末 0.25 g を 0.5 mM リン酸バッファー (p H 7.5) で 100 ml 溶液にし、波長 420 nm での吸光度を測定した。吸光度は、1

． 1 1 であった。

製造例 6 （イオン交換樹脂を用いた単塔式回分分離による 2 番蜜の分画）

原糖工場で得られた 2 番蜜処理液を原料として、単塔式回分分離法によるイオン交換カラムクロマトグラフィー処理を行った。

- 5 原料として使用した 2 番蜜処理液は、2 番蜜を希釈後、炭酸ソーダによる清浄処理、珪藻土濾過を行ったものである。この原料液の分析値は、ブリックス 4 7 . 4、糖度 (P o l .) 2 3 . 2、純糖率 (P u r i t y) 4 8 . 9、還元糖分 3 . 2 % であった。

- この原料を用いて、F P L C システム (ファルマシア株式会社製) を用いた単
10 塔式回分分離法によるイオン交換クロマトグラフィーによる分画分離を行った。

- カラムにゲル型の強酸性陽イオン交換樹脂 U B K 5 3 0、ナトリウムイオン型 (商品名、三菱化学株式会社) 5 0 0 m l を充填した。カラムは内径 2 6 m m、高さ 1 0 0 0 m m で、フローアダプター付きであった。通液条件は、溶出液として脱気した蒸留水を用い、流速 $S V = 0 . 5 \text{ h r}^{-1}$ (4 . 1 7 m l / 分)、温
15 度 6 0 °C で行った。

約 2 5 m l の原料をカラムに供与した。分画条件は、原料供与 3 0 分後から溶出液の回収を開始し、試験管 1 本当たり 3 . 6 分間回収し (約 1 5 m l / 本)、全部で 3 0 本回収した。

- 得られた 3 0 画分についての波長 4 2 0 n m の吸光度、電気伝導度、及び糖濃
20 度を測定し、図 3 に示した。ここで、吸光度測定のために、0 . 5 m M リン酸バッファ (p H 7 . 5) 2 m l に各画分 0 . 1 m l を加えて試料とした。電気伝導度測定のために、各画分を蒸留水で 0 . 5 % に希釈して試料とした。糖濃度は H P L C により測定された。

- 各ピークと抗ウイルス活性の関係を調べるため、波長 4 2 0 n m の吸光ピーク
25 部分を 4 つに、また蔗糖のピーク部分を 3 つに、蔗糖のピーク以降を 1 つにまとめた。すなわち、画分 3 および 4 を合わせてサンプル 1 に、画分 5 および 6 を合わせてサンプル 2 に、画分 7 および 8 を合わせてサンプル 3 に、画分 9 および 1 0 を合わせてサンプル 4 に、画分 1 1 および 1 2 を合わせてサンプル 5 に、画分 1 3 および 1 4 を合わせてサンプル 6 に、画分 1 5 および 1 6 を合わせてサンプ

- ル7に、画分17から30を合わせてサンプル8とした。画分1および2は溶出される成分がほとんどないため、廃棄した。各サンプルを1晩凍結乾燥して、粉末とした。得られた凍結乾燥粉末0.25gを0.5mMリン酸バッファー（pH7.5）に溶解して、100mlとし、波長420nmでの吸光度を測定し、
- 5 下記表に示した。サンプル8の吸光度は0.86と比較的高かったが、これはテーリングした成分を集めたものだからである。他のサンプルは2画分ずつを一緒にしたものであるのに対し、サンプル8は14画分を合わせたものである。従って、420nmの吸光度は高いが、この画分だけを本効果の画分として回収するのは効率が悪い。表中の伝導度灰分は、電気伝導度と既知の硫酸灰分の関係の検
- 10 量線から係数を求め、算出したものである。

各サンプルの分析結果を以下の表1に示した。表において、凍結乾燥固形分の分配比率は、全サンプルの固形分重量の合計に対する各サンプルの固形分重量の比（％）である。伝導度灰分及び各糖の含量は、各サンプルの固形分重量に対する比である。

- 15 糖分含量から、サンプル1～3が非糖分画分に相当し、サンプル4～8が糖分画分に相当する事が判る。

表1

イオン交換樹脂による2番蜜分画サンプルの分析値

| | 凍結乾燥固形分の分配比率(%) | 電導度灰分(%) | Suc含量(%) | Glu含量(%) | Fru含量(%) | 吸光度 |
|------------|-----------------|----------|----------|----------|----------|------|
| サンプル1 | 3.1 | 32.9 | 0 | 0 | 0 | 2.72 |
| サンプル2 | 7.2 | 39.7 | 0 | 0 | 0 | 2.01 |
| サンプル3 | 10.7 | 51.4 | 10.4 | 0 | 0 | 0.83 |
| サンプル4 | 21.9 | 32.6 | 45.6 | 1.4 | 0.7 | 0.33 |
| サンプル5 | 25.9 | 18.8 | 64.2 | 2.9 | 1.3 | 0.16 |
| サンプル6 | 19.6 | 10 | 73.5 | 4.7 | 2.3 | 0.11 |
| サンプル7 | 8.4 | 3.5 | 74 | 6.2 | 3.2 | 0.14 |
| サンプル8 | 3.1 | 3.3 | 29.8 | 4.5 | 4.4 | 0.86 |
| イオンクロマト分離液 | — | 43.7 | 5.9 | 0.9 | 1.4 | 1.04 |

製造例7 （イオンクロマト分離によるエキスを電気透析により脱塩した）

- 20 イオン交換膜としてカチオン交換膜セレミオンCMV（商品名、旭硝子株式会社製）およびアニオン交換膜セレミオンAMV（商品名、旭硝子株式会社製）を備えた電気透析槽（CH-0型、旭硝子株式会社製）用いて、製造例5で得た甘

蔗由来のエキス（濃縮された液体）を電気透析に付して、脱塩を行った。

濃縮液として100 g／リットルの塩化ナトリウム溶液10リットル、電極液として50 g／リットルの硫酸ナトリウム溶液4.0リットルを用いた。原料として10.7リットルのイオンクロマト分離液を使用した。

- 5 運転条件は、次の通りであった。即ち、電圧を3.0 Vの定電圧に設定した。電流ははじめ8.15 Aであるが、脱塩が進むにつれて下がっていった。運転開始から5時間経過したときに電流は1.6 Aとなり、このとき濃縮液8リットルを抜き取り、水8リットルを添加して希釈した。その後運転を再開し合計7時間脱塩処理を行い、このときの電流は0.6 Aであった。脱塩の経過を確認するため、脱塩液の塩素イオン濃度、硫酸イオン濃度を経時的に測定した。電気透析による脱塩処理では、陰イオンと陽イオンが同じ割合で除去される。陽イオンに関しては、カリウムイオン、ナトリウムイオン、カルシウムイオン、マグネシウムイオンなどが、イオンの種類に関わらずほぼ均等に脱塩されるが、陰イオンについては塩素イオンと硫酸イオンの除去率が異なっている。そこで、本実施例では
- 10 代表して陰イオンである塩素イオンと硫酸イオンの乾燥固形分あたりの含量をHPLCで測定し、除去率を測定した。開始時の脱塩されるエキスの塩素イオン含量は5.45重量%、硫酸イオン含量は7.41重量%、乾燥固形分あたりの硫酸塩分は43.0重量%であった。脱塩終了時の塩素イオン含量は0.03重量%（除去率99.4%）、硫酸イオン含量は6.61重量%（除去率10.8%）
- 15 ）、乾燥固形分あたりの硫酸塩分は34.7重量%（除去率19.3%）であった。

- 電気透析の結果、硫酸イオンはあまり除去されないが、塩素イオンはほとんど除去された。得たエキスを1晩凍結乾燥して、粉末にした。得られた粉末0.25 gを0.5 mMリン酸バッファー（pH 7.5）に溶解し100 mlとし、波
- 25 長420 nmでの吸光度を測定した。吸光度は、1.26であった。

試験例 1 甘蔗由来のエキスの急性毒性試験

製造例1で得られたエキス粉末を使用して、ラットを用いた単回経口投与毒性試験を行った。Sprague-Dawley系SPFラット（Crj:CD(SD)）の雌雄各16匹を5週令で入手し、約1週間検疫・馴化飼育した後、健康な動物を選び、6週令で試

験に供した。投与時の体重範囲は雄で157～171 g、雌で123～133 gであった。

飼育条件は、動物は温度 23 ± 3 ℃、相対湿度 50 ± 2 ％、換気回数1時間10～15回、照明1日12時間の飼育室で固形飼料（CRF-1（商品名）、オリエンタル酵母株式会社）及び飲料水を自由に摂取させて飼育した。

- 5 投与前一晩（約16時間）絶食させたラットに、一定の投与容量10ml/kg体重にて、所定濃度の甘蔗由来のエキス粉末を1回強制経口投与した。対照群の動物には滅菌蒸留水のみを同様に投与した。なお、絶食後の再給餌は投与6時間後に実施した。

- 投与量は、200mg/kg及び1000mg/kgの2用量とし、これに対照群を加えて計3
10 群を使用した。1群の動物数は雌雄共に5匹とした。

結果を以下の表2に示す。

表2

単回経口投与毒性試験

| 投与量 (mg/kg) | 濃度 (重量/体積％) | 投与容量 (ml/kg体重) | 性 | 個体数 | 死亡数 | 動物番号 |
|----------------|----------------|-------------------|---|-----|-----|-----------|
| 0 | 0 | 10 | 雄 | 5 | 0/5 | 1001～1005 |
| 0 | 0 | 10 | 雌 | 5 | 0/5 | 1101～1105 |
| 200 | 2 | 10 | 雄 | 5 | 0/5 | 2001～2005 |
| 200 | 2 | 10 | 雌 | 5 | 0/5 | 2101～2105 |
| 1000 | 10 | 10 | 雄 | 5 | 0/5 | 3001～3005 |
| 1000 | 10 | 10 | 雌 | 5 | 0/5 | 3101～3105 |

- 15 投与後14日間が経過した後、雌雄とも最大量の1000mg/kgでも、ラットの死亡は認められなかったもので、致死量は1000mg/kgを上回るものと推定される。

- 飼育中いずれのラットにおいても異常は認められず、さらに各被検液投与群の雌雄の体重は、対照群とほぼ同等の推移を示し、観察期間中の体重増加も対照群とほぼ同等であった。また、いずれのラットにおいても、解剖学的検査の結果、
20 体外表、頭部、胸部及び腹部の器官・組織に異常は見られなかった。

以上の結果から、製造例1で得られたエキス粉末をラットに単回経口投与毒性試験を行ったときの毒性は極めて弱いものと考えられる。

試験例2 甘蔗由来のエキスの大腸菌に対する抗菌活性

製造例 1 ～ 4 で得られたエキス粉末をそれぞれ用いて、大腸菌 (*Escherichia coli*) 6 種に対する最小発育阻止濃度 (MIC $\mu\text{g/ml}$) を、日本化学療法学会法に準拠して調べた。エキスを滅菌蒸留水で溶解・希釈し、100 $\mu\text{g/ml}$ 、300 $\mu\text{g/ml}$ 、1000 $\mu\text{g/ml}$ 、3000 $\mu\text{g/ml}$ 、10000 $\mu\text{g/ml}$ の 5 段階で測定した。その結果、大腸菌 5 6 種に対する MIC はすべて 10000 $\mu\text{g/ml}$ であり、強い抗菌活性は認められなかった。結果を以下の表 3 に示す。

表 3

各菌株に対する最小発育阻止濃度 ($\mu\text{g/ml}$)

| 菌株名 | 製造例 1 のエキス | 製造例 2 のエキス | 製造例 3 のエキス | 製造例 4 のエキス |
|--------------------------------|------------|------------|------------|------------|
| <i>Escherichia coli</i> NIHJ | 10000 | 10000 | 10000 | 10000 |
| <i>Escherichia coli</i> C-1 | 10000 | 10000 | 10000 | 10000 |
| <i>Escherichia coli</i> C-2 | 10000 | 10000 | 10000 | 10000 |
| <i>Escherichia coli</i> C-3 | 10000 | 10000 | 10000 | 10000 |
| <i>Escherichia coli</i> TK-18A | 10000 | 10000 | 10000 | 10000 |
| <i>Escherichia coli</i> E01292 | 10000 | 10000 | 10000 | 10000 |

10 また、他の数種の菌株 (細菌、酵母、真菌) に関して同様の試験を行った結果、細菌 (*Pseudomonas aureofaciens*)、酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*、*Hansenula anomala* 等)、真菌 (*Chaetomium globosum*) については、MIC が 1000 $\mu\text{g/ml}$ であり、大腸菌に対するよりも高い抗菌作用が認められた。

試験例 3 甘蔗由来のエキスのウイルス増殖抑制試験

15 製造例 1 および 2 で得られた甘蔗由来のエキス粉末をそれぞれ用いて、コクサッキーウイルス (Coxsackie virus type B6 Schmitt 株) 及びヘルペスウイルス (Herpes simplex virus type 1 HF 株) の増殖抑制能を調べた。

まずエキスのヒト胎児肺由来細胞 (HEL-R 66 細胞) に対する細胞毒性を調べた。甘蔗由来のエキスを滅菌蒸留水に溶解し、最終濃度が 125 ～ 2000 $\mu\text{g/ml}$ になるように調製し、培養細胞にかけた。4 日間培養し、細胞変性の有無を検鏡して判断した。その結果、表 4 に示すように、1000 $\mu\text{g/ml}$ までの濃度では、細胞 20 に対する毒性は認められなかった。

次に、細胞に 100PFU のウイルスを接種し、ウイルスの吸着後これを除去した。細胞の維持培地に甘蔗由来のエキスが最終濃度 125 ～ 1000 $\mu\text{g/ml}$ になるように添加し、ウイルスが吸着した細胞を 4 日間培養した。培養後、ウイルス増殖の有無 25

を検鏡して判定した。その結果、表5及び表6に示すように、甘蔗由来のエキスは、コクサッキーウイルスに対する増殖抑制効果はもたないが、ヘルペスウイルスに対し、500～1000 μ g/mlの作用濃度で増殖抑制能をもつことが明らかになった。

5

表4

細胞毒性

| | 甘蔗エキスの最終濃度 (μ g/ml) | | | | |
|------------|--------------------------|-----|-----|------|------|
| | 125 | 250 | 500 | 1000 | 2000 |
| 製造例1のエキス | — | — | — | — | + |
| 製造例2のエキス | — | — | — | — | + |
| 滅菌蒸留水 (対照) | — | — | — | — | — |

表5

コクサッキーウイルスに対する増殖抑制

| | 甘蔗エキスの最終濃度 (μ g/ml) | | |
|------------|--------------------------|-----|------|
| | 125 | 250 | 1000 |
| 製造例1のエキス | — | — | — |
| 製造例2のエキス | — | — | — |
| 滅菌蒸留水 (対照) | — | — | — |

10

表6

ヘルペスウイルスに対する増殖抑制

| | 甘蔗エキスの最終濃度 (μ g/ml) | | | |
|------------|--------------------------|-----|-----|------|
| | 125 | 250 | 500 | 1000 |
| 製造例1のエキス | — | — | ± | + |
| 製造例2のエキス | — | — | ± | + |
| 滅菌蒸留水 (対照) | — | — | — | — |

実施例1

- 15 Slc: ICRマウス雄5週令(体重約30g)を一群10匹で供試し、菌攻撃1日前に、前記製造例1～4で調製したエキスをそれぞれ滅菌蒸留水で溶解または懸濁したものを、100mg/kg又は500mg/kgになるように強制経口投与した。一方、対照区にも、同容量の滅菌蒸留水を経口投与した。菌攻撃は、ヒト由来大腸菌(E.coli)の希釈菌液の1MLDの菌量0.2ml(4.0×10^7 CFU/マウス)を、マウスの皮下に

接種し、4日後の生存率を求めた。判定は χ^2 検定により検定し、その結果を表7に示した。

表7

大腸菌感染防御試験

| 使用したエキス | エキス摂取量 | 生存率(%) | χ^2 検定 |
|----------|----------|--------|-------------|
| 対照 | | 0 | |
| 製造例1のエキス | 100mg/kg | 40 | * |
| 製造例1のエキス | 200mg/kg | 60 | ** |
| 製造例1のエキス | 500mg/kg | 80 | ** |
| 製造例2のエキス | 100mg/kg | 30 | |
| 製造例2のエキス | 500mg/kg | 50 | * |
| 製造例3のエキス | 100mg/kg | 30 | |
| 製造例3のエキス | 200mg/kg | 50 | * |
| 製造例3のエキス | 500mg/kg | 80 | ** |
| 製造例4のエキス | 100mg/kg | 0 | |
| 製造例4のエキス | 200mg/kg | 10 | |
| 製造例4のエキス | 500mg/kg | 40 | * |

5 * $p < 0.05$ 、** $p < 0.01$

甘蔗由来のエキスを投与後大腸菌を接種した群では、明らかに生存率が上昇しており、また投与量依存的に生存数が上昇した。すなわち、甘蔗由来のエキスには、感染防御効果が認められた。

10 実施例2

1) 供試したエキス

製造例1～4で調製した甘蔗由来のエキス粉末の他に、以下の処理エキスを調製した。まず、製造例2で調製したエキスを滅菌水に懸濁し、分画分子量1000のセルロースエステル製の透析チューブ(Spectra/Por(商標) CE(Cellulose Ester) Membrum MWC0:1000、スペクトラム社製)に入れ、滅菌水に対して透析を行った。得られた透析膜の内液を分子量1000以上の画分、外液を分子量1000以下の画分としてそれぞれ濃縮、乾固し試験に用いた。

2) 抗ウイルス試験

Slc:ICRマウス雄5週令(体重約30g)を一群10匹で供試し、ウイルス攻撃直後、1日後、2日後の計3回(又は1日3回×3日間連続投与の計9回)のタ

- イミングで、製造例 1～4 のエキスを、及び製造例 2 の処理エキス（分子量1000以下の画分及び分子量1000以上の画分）を、それぞれ滅菌蒸留水で溶解または懸濁したものを、表7に示す量で強制経口投与または筋肉内投与した。一方、対照区にも同容量の滅菌蒸留水を経口投与した。ウイルス攻撃は、ブタ由来オーエスキ
- 5 ーウイルスの希釈ウイルス液の 1 MLD (133PFU/mouse) のウイルス量0.2mlをマウスの皮下に接種し、7日後の生存率を求めた。判定は χ^2 検定により検定し、その結果を表 8 に示した。

表 8

ウイルス感染防御試験

| 使用したエキス | エキスの摂取量 | 投与方法 | 接種のタイミ ング | 生存率 (%) | χ^2 検定 |
|---------------------------|-----------|-------|--------------|------------|-------------|
| 対照 | | 経口投与 | | 0 | |
| 製造例1のエキス | 100mg/kg | 経口投与 | × 3 | 20 | |
| 製造例1のエキス | 200mg/kg | 経口投与 | × 3 | 60 | ** |
| 製造例1のエキス | 500mg/kg | 経口投与 | × 3 | 80 | ** |
| 製造例2のエキス | 100mg/kg | 経口投与 | × 3 | 10 | |
| 製造例2のエキス | 200mg/kg | 経口投与 | × 3 | 30 | |
| 製造例2のエキス | 500mg/kg | 経口投与 | × 3 | 70 | ** |
| 製造例3のエキス | 100mg/kg | 経口投与 | × 3 | 20 | |
| 製造例3のエキス | 200mg/kg | 経口投与 | × 3 | 40 | * |
| 製造例3のエキス | 500mg/kg | 経口投与 | × 3 | 70 | ** |
| 製造例4のエキス | 100mg/kg | 経口投与 | × 3 | 10 | |
| 製造例4のエキス | 200mg/kg | 経口投与 | × 3 | 30 | |
| 製造例4のエキス | 500mg/kg | 経口投与 | × 3 | 60 | ** |
| 製造例2のエキス | 25mg/kg | 経口投与 | × 3 × 3 | 0 | |
| 製造例2のエキス | 50mg/kg | 経口投与 | × 3 × 3 | 30 | |
| 製造例2のエキス | 100mg/kg | 経口投与 | × 3 × 3 | 40 | * |
| 製造例2のエキス | 200mg/kg | 経口投与 | × 3 × 3 | 70 | ** |
| 製造例2のエキス | 500mg/kg | 経口投与 | × 3 × 3 | 90 | ** |
| 製造例2の処理エキス (分子量1000以下) | 125mg/kg | 経口投与 | × 3 | 20 | |
| 製造例2の処理エキス (分子量1000以下) | 250mg/kg | 経口投与 | × 3 | 40 | * |
| 製造例2の処理エキス (分子量1000以下) | 500mg/kg | 経口投与 | × 3 | 80 | ** |
| 製造例2の処理エキス (分子量1000以上) | 500mg/kg | 経口投与 | × 3 | 20 | |
| 製造例2の処理エキス (分子量1000以下) | 1.56mg/kg | 筋肉内投与 | × 3 | 20 | |
| 製造例2の処理エキス (分子量1000以下) | 6.25mg/kg | 筋肉内投与 | × 3 | 30 | |
| 製造例2の処理エキス (分子量1000以下) | 25.0mg/kg | 筋肉内投与 | × 3 | 60 | ** |

* $p < 0.05$ 、** $p < 0.01$

× 3 は 1 日 1 回 3 日間連続投与を示し、× 3 × 3 は 1 日 3 回 3 日間連続投与を示す。

5

甘蔗由来のエキスを投与した群では明らかに生存率が上昇しており、また投与量依存的に生存数が上昇した。すなわち、甘蔗由来のエキスにはウイルス感染防御効果が認められた。また、製造例2の処理エキスでは、分子量1000以下の画

分の方が分子量1000以上の画分より効果が高かった。また、筋肉内投与により有意な生存率が認められたことから、本発明の甘蔗由来のエキスは筋肉内投与によっても効果を示すことがわかる。

実施例 3 (非糖分の摂取による大腸菌感染防御試験)

5 1) 供試したエキス

製造例 5 で調製したイオンクロマト分離によるエキスの粉末、および製造例 7 で調製したイオンクロマト分離によるエキスの脱塩物の粉末を用いた。

2) 大腸菌感染防御試験

Slc: ICRマウス雄 5 週令 (体重約 30 g) を一群 10 匹で供試し、菌攻撃 1 日前に、上記エキス粉末をそれぞれ滅菌蒸留水で溶解または懸濁したものを表 9 に示す量で強制経口投与した。一方、対照区にも、同容量の滅菌蒸留水を経口投与した。菌攻撃のために、ヒト由来大腸菌 (E.coli) の希釈菌液の 1 MLD の菌量 0.2ml (4.0×10^7 CFU/マウス) を、マウスの皮下に接種し、4 日後の生存率を求めた。判定は χ^2 検定により検定し、その結果を表 9 に示した。

15 その結果、甘蔗由来のエキスを投与した群では明らかに生存率が上昇しており、また投与量依存的に生存数が上昇した。また、脱塩の影響はあらわれなかった。

表 9

大腸菌感染防御試験

| 使用したエキス | 非糖分含量 (%) | エキスの投与量、 mg/kg (非糖分) | 生存率 (%) | χ^2 検定 |
|------------|-----------|-------------------------|---------|-------------|
| 対照 | | 滅菌水 0.5ml | 0 | |
| 製造例 5 のエキス | 91.8 | 109 (100) | 20 | |
| 製造例 5 のエキス | 91.8 | 218 (200) | 50 | * |
| 製造例 5 のエキス | 91.8 | 545 (500) | 70 | * * |
| 製造例 7 のエキス | 88.0 | 114 (100) | 10 | |
| 製造例 7 のエキス | 88.0 | 227 (200) | 40 | * |
| 製造例 7 のエキス | 88.0 | 568 (500) | 70 | * * |

*カッコ内の数値は非糖分のみの量 (以下の表で同様)

20 実施例 4 (非糖分の摂取による抗ウイルス試験)

1) 供試したエキス

製造例 5 で調製したイオンクロマト分離によるエキス粉末、製造例 6 で調製したサンプル 1 ～ 8 の粉末、および製造例 7 で調製したイオンクロマト分離によるエキスの脱塩物の粉末の合計 10 種類の甘蔗由来のエキスを試験に用いた。

2) 抗ウイルス試験

- 5 Slc:ICRマウス雄 5 週令（体重約 30 g）を一群 10 匹で供試し、ウイルス攻撃直後、1 日後、2 日後の計 3 回のタイミングで、上記エキス粉末をそれぞれ滅菌蒸留水で溶解または懸濁したものを、表 10 に示す量で強制経口投与した。一方、対照区にも同容量の滅菌蒸留水を強制経口投与した。ウイルス攻撃のために、
- 10 ブタ由来オーエスキーウイルスの希釈ウイルス液の 1 MLD (133PFU/mouse) のウイルス量 0.2ml をマウスの皮下に接種した。7 日後の生存率を求めた。判定は χ^2 検定により検定し、その結果を表 10 に示した。

試験の結果、甘蔗由来のエキスを投与した群では明らかに生存率が上昇しており、また投与量依存的に生存数が上昇した。

- 15 非糖分含量が高い、製造例 5 のエキス、製造例 6 のエキスのサンプル 1 ～ 3、製造例 7 のエキスは、特に高い生存率を示した。従って、糖は本活性成分ではないと考えられる。

表 1 0

ウイルス感染防御試験

| 使用したエキス | 非糖分含量 (%) | エキスの投与量、mg/kg (非糖分) | 生存率 (%) | χ^2 検定 |
|---------------|--------------|------------------------|------------|-------------|
| 対照 | | 滅菌水0.5ml | 0 | |
| 製造例5のエキス | 91.8 | 109 (100) | 10 | |
| 製造例5のエキス | 91.8 | 218 (200) | 40 | * |
| 製造例5のエキス | 91.8 | 545 (500) | 80 | ** |
| 製造例6のエキスサンプル1 | 100.0 | 200 (200) | 40 | * |
| 製造例6のエキスサンプル1 | 100.0 | 500 (500) | 80 | ** |
| 製造例6のエキスサンプル2 | 100.0 | 200 (200) | 50 | * |
| 製造例6のエキスサンプル2 | 100.0 | 500 (500) | 90 | ** |
| 製造例6のエキスサンプル3 | 89.6 | 223 (200) | 30 | |
| 製造例6のエキスサンプル3 | 89.6 | 558 (500) | 80 | ** |
| 製造例6のエキスサンプル4 | 52.3 | 382 (200) | 20 | |
| 製造例6のエキスサンプル4 | 52.3 | 956 (500) | 60 | ** |
| 製造例6のエキスサンプル5 | 31.6 | 1582 (500) | 50 | * |
| 製造例6のエキスサンプル6 | 19.5 | 2564 (500) | 40 | * |
| 製造例6のエキスサンプル7 | 16.6 | 3012 (500) | 40 | * |
| 製造例6のエキスサンプル8 | 61.2 | 327 (200) | 30 | |
| 製造例6のエキスサンプル8 | 61.2 | 817 (500) | 60 | ** |
| 製造例7のエキス | 89.2 | 112 (100) | 20 | |
| 製造例7のエキス | 89.2 | 224 (200) | 40 | * |
| 製造例7のエキス | 89.2 | 561 (500) | 70 | ** |

試験例 4 (イオンクロマト分離によるエキス液およびバガス抽出エキスのセファデックス G-25 による分子量による分画および抗ウイルス効果)

- 5 製造例 3 (バガスの熱水抽出エキス) 及び製造例 5 (イオンクロマト分離によるエキス液) で得られたエキスを使用して、分子量による分画のため、ゲル濾過クロマトグラフィーを行った。

- ゲル濾過に使用するエキスに沈殿物などが含まれていると目詰まりの原因となるため、前処理を行った。製造例 3 のエキスをブリックス 17.5 ~ 17.8 に
 10 蒸留水で希釈し、遠心分離 (600 × g、15 分間) により不溶物を除去した。上清を定性濾紙 No. 2 (アドバンテック東洋株式会社) もしくはガラス繊維濾紙 GA55 (アドバンテック東洋株式会社) で吸引ろ過し、濾液をゲル濾過クロマトグラフィー用サンプルとした。製造例 5 のエキスをブリックス 18.7 ~ 22.2 に蒸留水で希釈し、ガラス繊維濾紙 GA55 (アドバンテック東洋株式
 15 社) で濾過した濾液をゲル濾過クロマトグラフィー用サンプルとした。

ゲル濾過クロマトグラフィー用担体として、Sephadex G-25 Superfine (商品名、アマシャム ファルマシア バイオテック株式会社) 315 ml を、カラム (カラムサイズ: 内径 26 mm、高さ 630 mm) に充填し、クロマト装置として FPLC システム (ファルマシア株式会社) を使用した。

- 5 通液条件は、脱気した 35 % エタノール (エタノール/水 = 35/65 (体積/体積)) を通液溶媒とし、流速 $SV = 0.25 \text{ hr}^{-1}$ (1.32 ml/分)、室温であった。サンプル供給量は、製造例 3 のエキスをを用いた場合、前処理として定量濾紙を用いたサンプルは 6 ml、ガラス繊維濾紙を用いた場合は 17 ml とした。また、製造例 5 のエキスをを用いたときは 6 ml とした。クロマトグラ
- 10 フィー処理は、チャートの再現性を確認するため、同一条件で 5 回以上繰り返して行った。分画は、原料供給開始から約 80 分後から回収を開始し、15 分ごとに 1 本分取した。製造例 3 および 5 のエキスは、それぞれ 20 画分に分画された。カラムクロマトグラフィーの溶出パターンを図 4 と図 5 に示した。また、同一条件で分子量マーカーをクロマトグラフィー処理した際の溶出パターンを図 6 に
- 15 示した。

得られた 20 画分を分子量 10000 以上のサンプル 1 (画分 1~4)、電気伝導度のピークの手前までのサンプル 2 (画分 5~11)、塩類を多く含むサンプル 3 (画分 12 から 20) の 3 つのサンプルとした。

- これらのサンプル 1~3 を凍結乾燥粉末とした。分析値を表 11 に示す。凍結
- 20 乾燥固形分の分配比率、及び各糖分の含量の定義は表 1 におけると同じである。各粉末を用いて、実施例 4 と同様な方法で抗ウイルス試験を行った。結果を表 12 に示す。

- 試験の結果、サンプル 1~3 の間に有意な差は認められなかった。このことから、イオンクロマト分離によるエキスおよびバガスの熱水抽出エキスには抗ウイルス
- 25 活性を示す物質が複数存在し、分子量の広い範囲に分布することがわかった。

表 1 1

| | 凍結乾燥固形分の 分配比率 (%) | Suc 含量 (%) | Glu 含量 (%) | Fru 含量 (%) |
|-----------------|----------------------|---------------|---------------|---------------|
| 製造例 3 の分画サンプル 1 | 8.8 | 0 | 0 | 0 |
| 製造例 3 の分画サンプル 2 | 42.3 | 20.7 | 3.5 | 3.1 |
| 製造例 3 の分画サンプル 3 | 48.9 | 0 | 0 | 0 |
| 製造例 5 の分画サンプル 1 | 46.5 | 0 | 0 | 0 |
| 製造例 5 の分画サンプル 2 | 28.8 | 9.8 | 1.9 | 1.6 |
| 製造例 5 の分画サンプル 3 | 24.8 | 0 | 0 | 0 |

ウイルス感染防御試験

| 使用したエキス | 非糖分含 量 (%) | エキスの投与量、mg/kg (非糖分) | 生存 率 | χ^2 検定 |
|--------------|---------------|------------------------|---------|-------------|
| 対照 | | 滅菌水0.5ml | 0 | |
| 製造例3の分画サンプル1 | 100.0 | 200 (200) | 40 | * |
| 製造例3の分画サンプル1 | 100.0 | 500 (500) | 90 | ** |
| 製造例3の分画サンプル2 | 72.7 | 28 (20) | 30 | |
| 製造例3の分画サンプル2 | 72.7 | 688 (500) | 70 | ** |
| 製造例3の分画サンプル3 | 100.0 | 200 (200) | 30 | |
| 製造例3の分画サンプル3 | 100.0 | 500 (500) | 80 | ** |
| 製造例5の分画サンプル1 | 100.0 | 200 (200) | 50 | * |
| 製造例5の分画サンプル1 | 100.0 | 500 (500) | 90 | ** |
| 製造例5の分画サンプル2 | 86.7 | 231 (200) | 30 | |
| 製造例5の分画サンプル2 | 86.7 | 577 (500) | 70 | ** |
| 製造例5の分画サンプル3 | 100.0 | 200 (200) | 50 | * |
| 製造例5の分画サンプル3 | 100.0 | 500 (500) | 90 | ** |

表 1 2

5

実施例 5 (ワクチンアジュバント効果評価試験)

1) 供試したエキス

製造例 1 のエキス粉末 (カラムクロマトグラフィー法により得られたエキス)、製造例 3 のエキス粉末 (バガス抽出物)、製造例 5 のエキス粉末 (イオンクロマト分離によるエキス)、および製造例 7 のエキス粉末 (イオンクロマト分離によるエキス脱塩処理物) を用いた。

10

2) ワクチンアジュバント効果評価試験

各群 10 匹のSlc:ICRマウス (雄、5 週令、体重約 30 g) を使用し、甘蔗由来

の各種エキスの投与によるワクチンアジュバント効果を検討した。

- 製造例 1、3、5 または 7 のエキス投与区では、市販のブタオーエスキーウイルスワクチン (AWV) を生理食塩液で約 20 倍に希釈し、0.2ml をマウスに筋肉内投与した。同日 (ワクチン投与後) から各エキス粉末 500mg (非糖分) / kg を 0.5ml の滅菌水に溶解し、1日1回、6日間、経口投与した。ワクチン投与日の 14 日後に、ブタ由来オーエスキーウイルス希釈液 0.2ml (生理食塩液で希釈、1MLD 相当) を皮下接種して攻撃し、その 7 日後の生存率を求めた。

- また、製造例 3 のエキスに関しては、100mg (非糖分) / kg のエキス粉末を 0.5ml の滅菌水に溶解し、ワクチンと混合して筋肉内に単回投与する群も設定した。
- 10 ワクチン無投与区では、ワクチンの代わりに生理食塩液 0.2ml、エキスの代わりに滅菌水 0.5ml をそれぞれ投与した。また、エキス無投与区では、エキスの代わりに滅菌水 0.5ml を投与した。

アジュバント効果の有無の判定は、エキス無投与 (ワクチン単独投与) 区の生存率との χ^2 検定により行った。結果を表 13 に示した。

- 15 ワクチン無投与区とエキス無投与 (ワクチン単独投与) 区との間には明らかに差が認められなかった。また、甘蔗由来のエキスとワクチンを混合して筋肉内投与した場合は、生存率に有意差が認められなかった。これらに対し、甘蔗由来のエキスを経口投与したエキス投与区では、生存率の有意な上昇が認められ、ワクチンのアジュバント効果があることが示された。

20

表 13

ワクチンアジュバント効果評価試験

| 使用したエキス | 非糖分含量 (%) | エキス投与量, mg/kg (非糖分) | エキスの投与方法 | 免疫 | 生存率 (%) | χ^2 検定 |
|------------|-----------|---------------------|---------------------|----------------|---------|-------------|
| ワクチン無投与区 | | 滅菌水 0.5ml | 経口投与 | 生食 0.2ml i.m. | 0 | |
| エキス無投与区 | | 滅菌水 0.5ml | 経口投与 | AWV 0.2ml i.m. | 20 | |
| 製造例 1 のエキス | 96.0 | 521 (500) | 経口投与 | AWV 0.2ml i.m. | 80 | * |
| 製造例 3 のエキス | 87.7 | 570 (500) | 経口投与 | AWV 0.2ml i.m. | 80 | * |
| 製造例 5 のエキス | 91.8 | 545 (500) | 経口投与 | AWV 0.2ml i.m. | 80 | * |
| 製造例 7 のエキス | 89.2 | 561 (500) | 経口投与 | AWV 0.2ml i.m. | 70 | * |
| 製造例 3 のエキス | 87.7 | 114 (100) | 筋肉内投与 ¹⁾ | AWV 0.2ml i.m. | 20 | |

1): ワクチンと混合投与

生食: 生理食塩液 AWV: オーエスキーウイルスワクチン

i.m.: 筋肉内投与

*: $0.01 < p \leq 0.05$

実施例 6

1) 供試したエキス

製造例 1 ~ 4 で調製した甘蔗由来のエキス粉末の他に、実施例 2 と同様な方法で処理した製造例 2 の処理エキス粉末（分子量 1000 以下の画分及び分子量 1000 以上の画分）を試験に用いた。

2) 抗エンドトキシン効果確認試験

Slc:ICR マウス雄 5 週令（体重約 30 g）を一群 10 匹で供試し、エンドトキシン（リポポリサッカライド、以下「L P S」とする）攻撃、1 日前および 6 時間後の計 2 回のタイミングで、製造例 1 ~ 4 のエキス及び製造例 2 の処理エキス（分子量 1000 以下の画分及び分子量 1000 以上の画分）を滅菌蒸留水で溶解・懸濁後、100mg/kg の割合で、強制経口投与した。一方、対照区にも同容量の滅菌蒸留水を経口投与した。エンドトキシン攻撃は、大腸菌由来の L P S の最小致死量 0.2ml を、マウスの尾静脈に接種し、4 日後の生存率を求めた。判定は χ^2 検定により検定し、その結果を表 14 に示した。

表 14

抗エンドトキシンショック評価試験

| 使用したエキス | 生存率 (%) | χ^2 検定 |
|----------------------------------|---------|-------------|
| 対照 | 0 | |
| 製造例 1 のエキス | 50 | * |
| 製造例 2 のエキス | 40 | * |
| 製造例 3 のエキス | 40 | * |
| 製造例 2 の処理エキス （分子量 1000 以下の画分） | 60 | ** |
| 製造例 2 の処理エキス （分子量 1000 以上の画分） | 20 | |

* $p < 0.05$ 、** $p < 0.01$

甘蔗由来のエキスを投与した群では明らかに生存率が上昇していることから、本発明のエキスは抗エンドトキシン効果を示すことが考えられる。また、製造例 2 の処理エキスでは低分子量画分の方が高分子量画分より効果が高かった。

実施例 7 （抗エンドトキシン効果評価試験）

1) 供試したエキス

製造例 5 のエキス粉末（イオンクロマト分離によるエキス）および製造例 7 のエキス粉末（イオンクロマト分離によるエキスの脱塩物）を用いた。

2) 抗エンドトキシン効果評価試験

- Slc: ICRマウス雄 5 週令（体重約 30 g）を一群 10 匹で供試し、エンドトキシン（LPS）攻撃、1 日前および 6 時間後の計 2 回のタイミングで、エキスを蒸留水で溶解・懸濁後、100mg/kg の割合で、強制経口投与した。一方、対照区にも同容量の滅菌蒸留水を強制経口投与した。エンドトキシン攻撃は、大腸菌由来の LPS の最小致死量 0.2ml を、マウスの尾静脈に接種し、4 日後の生存率を求めた。判定は χ^2 検定により行い、結果を表 15 に示した。

10

表 15

抗エンドトキシンショック評価試験

| 使用したエキス | 非糖分含量 (%) | エキス投与量 (mg/kg) | 生存率 (%) | χ^2 検定 |
|------------|-----------|----------------|---------|-------------|
| 対照 | | | 0 | |
| 製造例 5 のエキス | 91.8 | 100 | 50 | * |
| 製造例 7 のエキス | 89.2 | 100 | 40 | * |

実施例 8

- Slc: ICRマウス雄 3 週令（体重約 12g）を一群 5 匹で供試した。一区は MF 標準飼料対照区、2～5 区は製造例 1～4 で調製したエキス 0.1% 添加 MF 標準飼料区で、28 日間飼育した。終了時に体重測定を行い、併せて採血・血漿の生化学的検査も実施した。体重増加の結果を表 16 に、血漿の生化学的検査の結果を表 17 に示す。

- 表中の増体重は、試験期間中に増加した体重の量を示し、増体率は試験開始時の体重 1 g に対して増加した体重の量を示している。増体率比は対照区の増体率を 100% としたときの増体率を示している。

20

表 16

エキスの成長促進効果

| 試験群 | 増体重 (g) | 増体率 | 増体率比 (%) |
|------------|---------|------|----------|
| 対照区 | 27.6 | 2.29 | 100 |
| 製造例 1 のエキス | 31.4 | 2.60 | 114 |
| 製造例 2 のエキス | 30.9 | 2.55 | 111 |
| 製造例 3 のエキス | 30.0 | 2.51 | 110 |
| 製造例 4 のエキス | 29.9 | 2.48 | 108 |

表 17

エキシ投与後の血漿生化学的検査結果

| 測定項目 | GPT (IU/L) | GOT (IU/L) | ALP (IU/L) | GLU (mg/dl) | CRNN (mg/dl) | T. CHO (mg/dl) | TG (mg/dl) | T. PRO (g/dl) | PL (mg/dl) | ALB-U (g/dl) | LDH (IU/L) |
|----------|---------------|---------------|----------------|----------------|-----------------|-------------------|----------------|------------------|----------------|-----------------|---------------|
| 試験群 | | | | | | | | | | | |
| 対照区 | 35.4 ±49.8 | 50.8 ±42.1 | 205.8 ±23.3 | 156.0 ±13.2 | 0.162 ±0.028 | 114.6 ±13.8 | 91.6 ±46.1 | 4.22 ±0.34 | 225.2 ±27.3 | 2.44 ±0.20 | 962 ±993 |
| 製造例1のエキシ | 22.0 ±10.5 | 46.0 ±6.8 | 190.0 ±39.0 | 179.0 ±25.0 | 0.112 ±0.031 | 114.8 ±15.3 | 112.8 ±35.0 | 4.42 ±0.17 | 220.6 ±20.7 | 2.56 ±0.10 | 968 ±259 |
| 製造例2のエキシ | 31.0 ±21.8 | 48.0 ±9.7 | 186.6 ±28.8 | 181.2 ±21.9 | 0.134 ±0.029 | 115.4 ±13.4 | 90.4 ±25.4 | 4.40 ±0.27 | 218.2 ±17.9 | 2.54 ±0.22 | 1113 ±277 |
| 製造例3のエキシ | 16.4 ±4.4 | 37.0 ±8.8 | 172.2 ±20.8 | 170.8 ±10.0 | 0.116 ±0.010 | 103.8 ±15.8 | 88.8 ±19.4 | 4.04 ±0.08 | 202.2 ±15.9 | 2.40 ±0.00 | 767 ±204 |
| 製造例4のエキシ | 18.6 ±4.5 | 53.8 ±23.3 | 220.4 ±35.5 | 190.0 ±24.4 | 0.120 ±0.032 | 110.0 ±12.6 | 81.2 ±33.5 | 3.88 ±0.16 | 202.1 ±17.9 | 2.26 ±0.10 | 1420 ±747 |

試験の結果、甘蔗由来のエキスを使用した群では明らかに体重が増加しており、成長促進活性が認められた。また、生化学的検査の結果、異常は認められなかった。

実施例 9 (製造例 3、5 および 7 のエキス粉末を用いた成長促進効果)

- 5 Slc:ICRマウス雄 3 週令 (体重約 12 g) を一群 5 匹で供試した。糖分は有効成分ではないと考え、非糖分の投与量を一定とした。対照区には MF 標準飼料を与え、エキス投与区には製造例 3 のエキス (バガス抽出物)、製造例 5 のエキス (イオンクロマト分離によるエキス)、または製造例 7 のエキス (イオンクロマト分離によるエキスの脱塩物) をそれぞれ非糖分で 0.1 % 添加した MF 標準飼料を
- 10 自由摂取させ、28 日間飼育した。終了時に体重測定を行い、併せて採血・血漿の生化学的検査も実施した。体重増加の結果を表 18 に、血漿の生化学的検査の結果を表 19 に示す。

- 表中の増体重は、試験期間中に増加した体重の量を示し、増体率は試験開始時の体重 1 g に対して増加した体重の量を示している。増体率比は対照区の増体率
- 15 を 100 % としたときの増体率を示している。

表 18

エキスの成長促進効果

| 試験群 | 増体重(g) | 増体率 | 増体率比(%) |
|-------------------------------------|--------|------|---------|
| 対照区 | 27.1 | 2.34 | 100 |
| 製造例3のエキス1.00%添加区 (非糖分換算0.1%添加) | 29.3 | 2.54 | 109 |
| 製造例5のエキス0.109%添加区 (非糖分含量0.1%添加区) | 29.5 | 2.52 | 108 |
| 製造例7のエキス0.114%添加区 (非糖分含量0.1%添加) | 28.9 | 2.49 | 106 |

表 19

エキス投与後の血漿生化学的検査結果

| 測定項目 | GPT (IU/L) | GOT (IU/L) | ALP (IU/L) | GLU (mg/dl) | CRNN (mg/dl) | T.CHO (mg/dl) | TG (mg/dl) | T.PRO (g/dl) | PL (mg/dl) | ALB-U (g/dl) | LDH (IU/L) |
|-----------------|---------------|---------------|----------------|----------------|-----------------|------------------|----------------|-----------------|----------------|-----------------|----------------|
| 試験群 | | | | | | | | | | | |
| 対照区 | 25.8 ±5.7 | 53.6 ±14.8 | 175.6 ±90.7 | 164.8 ±33.5 | 0.114 ±0.021 | 116.2 ±11.2 | 113.8 ±42.6 | 4.36 ±0.24 | 218.0 ±16.5 | 2.46 ±0.10 | 973.0 ±500 |
| 製造例3のエキス 添加区 | 28.4 ±5.2 | 55.2 ±14.8 | 194.6 ±23.8 | 215.8 ±36.6 | 0.132 ±0.024 | 102.4 ±12.1 | 36.2 ±13.1 | 4.18 ±0.07 | 197.0 ±9.5 | 2.50 ±0.11 | 456.0 ±44.4 |
| 製造例5のエキス 添加区 | 91.6 ±9.2 | 52.2 ±13.8 | 186.4 ±38.1 | 161.2 ±29.8 | 0.132 ±0.029 | 90.0 ±15.9 | 81.2 ±42.4 | 4.18 ±0.34 | 179.6 ±30.2 | 2.34 ±0.22 | 956 ±135 |
| 製造例7のエキス 添加区 | 30.2 ±6.3 | 61.6 ±16.1 | 192.8 ±14.6 | 210.0 ±17.8 | 0.142 ±0.040 | 98.8 ±8.4 | 44.0 ±21.7 | 4.34 ±0.10 | 208.2 ±12.2 | 2.62 ±0.07 | 849 ±326 |

産業上の利用可能性

- 本発明によれば、甘蔗由来のエキスをヒト又は動物に例えば経口的に与えることにより、ヒト又は動物に対する細菌及びウイルス等による感染を予防治療することができ、またエンドトキシンによる疾患も予防することができる。また、甘蔗由来のエキスは、ヒト又は動物に例えば経口的に与えることにより、ワクチンアジュバントとして作用し、また成長を促進することができる。しかも、甘蔗由来のエキスは植物由来であり、古来より、ヒトが黒糖などの含蜜糖として食してきた天然物であるため、ヒト及び動物の健康を害することなく安全で、しかも低コストである。また、天然物であるにもかかわらずその感染予防治効果、抗エンドトキシン効果、ワクチンアジュバント効果、および成長促進効果は高く、少量で作用するため、産業上非常に有用である。

請求の範囲

1. 甘蔗由来のエキスを有効成分とする感染予防治療剤。
2. 甘蔗由来のエキスが、甘蔗汁、甘蔗の溶媒抽出液および甘蔗由来の糖蜜より
5 選ばれる原料を、固定担体を用いたカラムクロマトグラフィーで処理することにより得られる画分である請求項 1 記載の感染予防治療剤。
3. 甘蔗由来のエキスが、甘蔗汁、甘蔗の溶媒抽出液および甘蔗由来の糖蜜より選ばれる原料を、固定担体としての合成吸着剤を充填したカラムに通液し、該合成吸着剤に吸着された成分を、水、メタノール、エタノール及びこれらの混合物
10 から選ばれる溶媒で溶出することにより得られる画分である請求項 2 記載の感染予防治療剤。
4. 甘蔗由来のエキスが、甘蔗汁、甘蔗の溶媒抽出液および甘蔗由来の糖蜜より選ばれる原料を、固定担体としてのイオン交換樹脂を充填したカラムでの親和力の差を利用したカラムクロマトグラフィー処理により分離して得られる画分のう
15 ち、波長 420 nm の光を吸収する画分である請求項 2 記載の感染予防治療剤。
5. イオン交換樹脂が陽イオン交換樹脂である請求項 4 記載の感染予防治療剤。
6. 陽イオン交換樹脂が強酸性陽イオン交換樹脂である請求項 5 記載の感染予防治療剤。
7. 強酸性陽イオン交換樹脂がナトリウムイオン型もしくはカリウムイオン型で
20 ある請求項 6 記載の感染予防治療剤。
8. イオン交換樹脂がゲル型である請求項 4 ~ 7 のいずれか一項記載の感染予防治療剤。
9. カラムクロマトグラフィー処理が擬似移動床式連続分離法で行われる請求項 4 ~ 8 のいずれか一項記載の感染予防治療剤。
- 25 10. 波長 420 nm の光を吸収する画分を更に電気透析処理に付して塩分を低減したところの、請求項 4 ~ 9 のいずれか一項記載の感染予防治療剤。
11. 甘蔗由来のエキスが、バガス水を、親水性溶剤、またはこれらの混合物で抽出して得られるものである請求項 1 記載の感染予防治療剤。
12. 親水性溶媒がエタノールである請求項 11 記載の感染予防治療剤。

13. 抽出のための親水性溶媒が、60/40体積比以下の比でエタノールを含むエタノール-水混合溶媒である請求項11記載の感染予防治療剤。
14. 請求項1～13のいずれか一項記載の感染予防治療剤を含む食品。
15. 請求項1～13のいずれか一項記載の感染予防治療剤を含む飼料。
- 5 16. 甘蔗由来のエキスを有効成分とするワクチンワクチンアジュバント剤。
17. 甘蔗由来のエキスが、甘蔗汁、甘蔗の溶媒抽出液および甘蔗由来の糖蜜より選ばれる原料を、固定担体を用いたカラムクロマトグラフィーで処理することにより得られる画分である請求項16記載のワクチンワクチンアジュバント剤。
18. 甘蔗由来のエキスが、甘蔗汁、甘蔗の溶媒抽出液および甘蔗由来の糖蜜より選ばれる原料を、固定担体としての合成吸着剤を充填したカラムに通液し、該合成吸着剤に吸着された成分を、水、メタノール、エタノール及びこれらの混合物から選ばれる溶媒で溶出することにより得られる画分である請求項17記載のワクチンワクチンアジュバント剤。
- 10 19. 甘蔗由来のエキスが、甘蔗汁、甘蔗の溶媒抽出液および甘蔗由来の糖蜜より選ばれる原料を、固定担体としてのイオン交換樹脂を充填したカラムでの親和力の差を利用したカラムクロマトグラフィー処理により分離して得られる画分のうち、波長420nmの光を吸収する画分である請求項17記載のワクチンワクチンアジュバント剤。
- 15 20. イオン交換樹脂が陽イオン交換樹脂である請求項19記載のワクチンワクチンアジュバント剤。
- 20 21. 陽イオン交換樹脂が強酸性陽イオン交換樹脂である請求項20記載のワクチンワクチンアジュバント剤。
22. 強酸性陽イオン交換樹脂がナトリウムイオン型もしくはカリウムイオン型である請求項21記載のワクチンワクチンアジュバント剤。
- 25 23. イオン交換樹脂がゲル型である請求項19～22のいずれか一項記載のワクチンワクチンアジュバント剤。
24. カラムクロマトグラフィー処理が擬似移動床式連続分離法で行われる請求項19～23のいずれか一項記載のワクチンワクチンアジュバント剤。
25. 波長420nmの光を吸収する画分を更に電気透析処理に付して塩分を低

減したところの、請求項 19～24 のいずれか一項記載のワクチンワクチンアジュバント剤。

26. 甘蔗由来のエキスが、バガスを水、親水性溶剤、またはこれらの混合物で抽出して得られるものである請求項 16 記載のワクチンワクチンアジュバント剤
5。

27. 抽出時の親水性溶剤がエタノールである請求項 26 記載のワクチンワクチンアジュバント剤。

28. 抽出のための溶媒が、60/40 体積比以下の比でエタノールを含むエタノール-水混合溶媒である請求項 26 記載のワクチンワクチンアジュバント剤。

10 29. 請求項 16～28 のいずれか一項記載のワクチンワクチンアジュバント剤を含む食品。

30. 請求項 16～28 のいずれか一項記載のワクチンワクチンアジュバント剤を含む飼料。

31. 甘蔗由来のエキスを有効成分とする抗エンドトキシン剤。

15 32. 甘蔗由来のエキスが、甘蔗汁、甘蔗の溶媒抽出液および甘蔗由来の糖蜜より選ばれる原料を、固定担体を用いたカラムクロマトグラフィーで処理することにより得られる画分である請求項 31 記載の抗エンドトキシン剤。

33. 甘蔗由来のエキスが、甘蔗汁、甘蔗の溶媒抽出液および甘蔗由来の糖蜜より選ばれる原料を、固定担体としての合成吸着剤を充填したカラムに通液し、該
20 合成吸着剤に吸着された成分を、水、メタノール、エタノール及びこれらの混合物から選ばれる溶媒で溶出することにより得られる画分である請求項 32 記載の抗エンドトキシン剤。

34. 甘蔗由来のエキスが、甘蔗汁、甘蔗の溶媒抽出液および甘蔗由来の糖蜜より選ばれる原料を、固定担体としてのイオン交換樹脂を充填したカラムでの親和
25 力の差を利用したカラムクロマトグラフィー処理により分離して得られる画分のうち、波長 420 nm の光を吸収する画分である請求項 32 記載の抗エンドトキシン剤。

35. イオン交換樹脂が陽イオン交換樹脂である請求項 34 記載の抗エンドトキシン剤。

36. 陽イオン交換樹脂が強酸性陽イオン交換樹脂である請求項35記載の抗エンドトキシン剤。
37. 強酸性陽イオン交換樹脂がナトリウムイオン型もしくはカリウムイオン型である請求項36記載の抗エンドトキシン剤。
- 5 38. イオン交換樹脂がゲル型である請求項34～37のいずれか一項記載の抗エンドトキシン剤。
39. カラムクロマトグラフィー処理が擬似移動床式連続分離法で行われる請求項34～38のいずれか一項記載の抗エンドトキシン剤。
40. 波長420nmの光を強く吸収する画分を更に電気透析処理に付して塩分を低減したところの、請求項34～39のいずれか一項記載の抗エンドトキシン剤。
- 10 41. 甘蔗由来のエキスが、バガスを水、親水性溶剤、またはこれらの混合物で抽出して得られるものである請求項31記載の抗エンドトキシン剤。
42. 親水性溶剤がエタノールである請求項41記載の抗エンドトキシン剤。
- 15 43. 抽出のための溶媒が、60/40体積比以下の比でエタノールを含むエタノール-水混溶媒である請求項41記載の抗エンドトキシン剤。
44. 請求項31～43のいずれか一項記載の抗エンドトキシン剤を含む食品。
45. 請求項31～43のいずれか一項記載の抗エンドトキシン剤を含む飼料。
- 20 46. 甘蔗由来のエキスを有効成分とする成長促進剤。
47. 甘蔗由来のエキスが、甘蔗汁、甘蔗の溶媒抽出液および甘蔗由来の糖蜜より選ばれる原料を、固定担体を用いたカラムクロマトグラフィーで処理することにより得られる画分である請求項46記載の成長促進剤。
48. 甘蔗由来のエキスが、甘蔗汁、甘蔗の溶媒抽出液および甘蔗由来の糖蜜より選ばれる原料を、固定担体としての合成吸着剤を充填したカラムに通液し、該合成吸着剤に吸着された成分を、水、メタノール、エタノール及びこれらの混合物から選ばれる溶媒で溶出することにより得られる画分である請求項47記載の成長促進剤。
- 25 49. 甘蔗由来のエキスが、甘蔗汁、甘蔗の溶媒抽出液および甘蔗由来の糖蜜よ

- り選ばれる原料を、固定担体としてのイオン交換樹脂を充填したカラムでの親和力の差を利用したカラムクロマトグラフィー処理により分離して得られる画分のうち、波長420nmの光を吸収する画分である請求項47記載の成長促進剤。
50. イオン交換樹脂が陽イオン交換樹脂である請求項49記載の成長促進剤。
- 5 51. 陽イオン交換樹脂が強酸性陽イオン交換樹脂である請求項50記載の成長促進剤。
52. 強酸性陽イオン交換樹脂がナトリウムイオン型もしくはカリウムイオン型である請求項51記載の成長促進剤。
53. イオン交換樹脂がゲル型である請求項49～52のいずれか一項記載の成長促進剤。
- 10 54. カラムクロマトグラフィー処理が擬似移動床式連続分離法で行われる請求項49～53のいずれか一項記載の成長促進剤。
55. 波長420nmの光を吸収する画分を更に電気透析処理に付して塩分を低減したところの、請求項49～54のいずれか一項記載の成長促進剤。
- 15 56. 甘蔗由来のエキスが、バガスを水、親水性溶剤、またはこれらの混合物で抽出して得られるものである請求項46～55のいずれか一項記載の成長促進剤。
57. 親水性溶剤がエタノールである請求項56記載の成長促進剤。
58. 抽出のための溶媒が、60/40体積比以下の比でエタノールを含むエタノール-水混溶媒である請求項56記載の成長促進剤。
- 20 59. 請求項46～58のいずれか一項記載の成長促進剤を含む食品。
60. 請求項46～58のいずれか一項記載の成長促進剤を含む飼料。



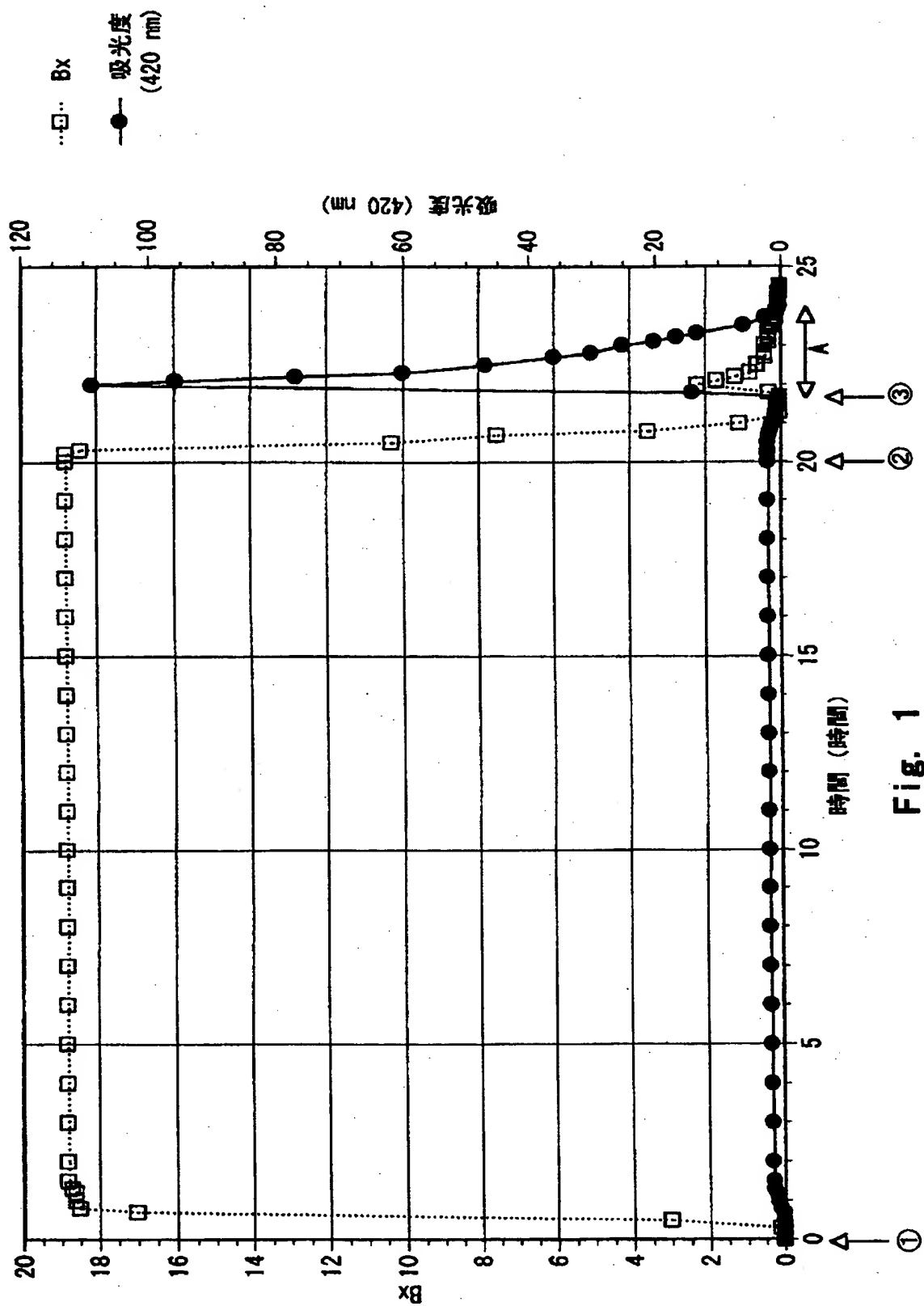


Fig. 1



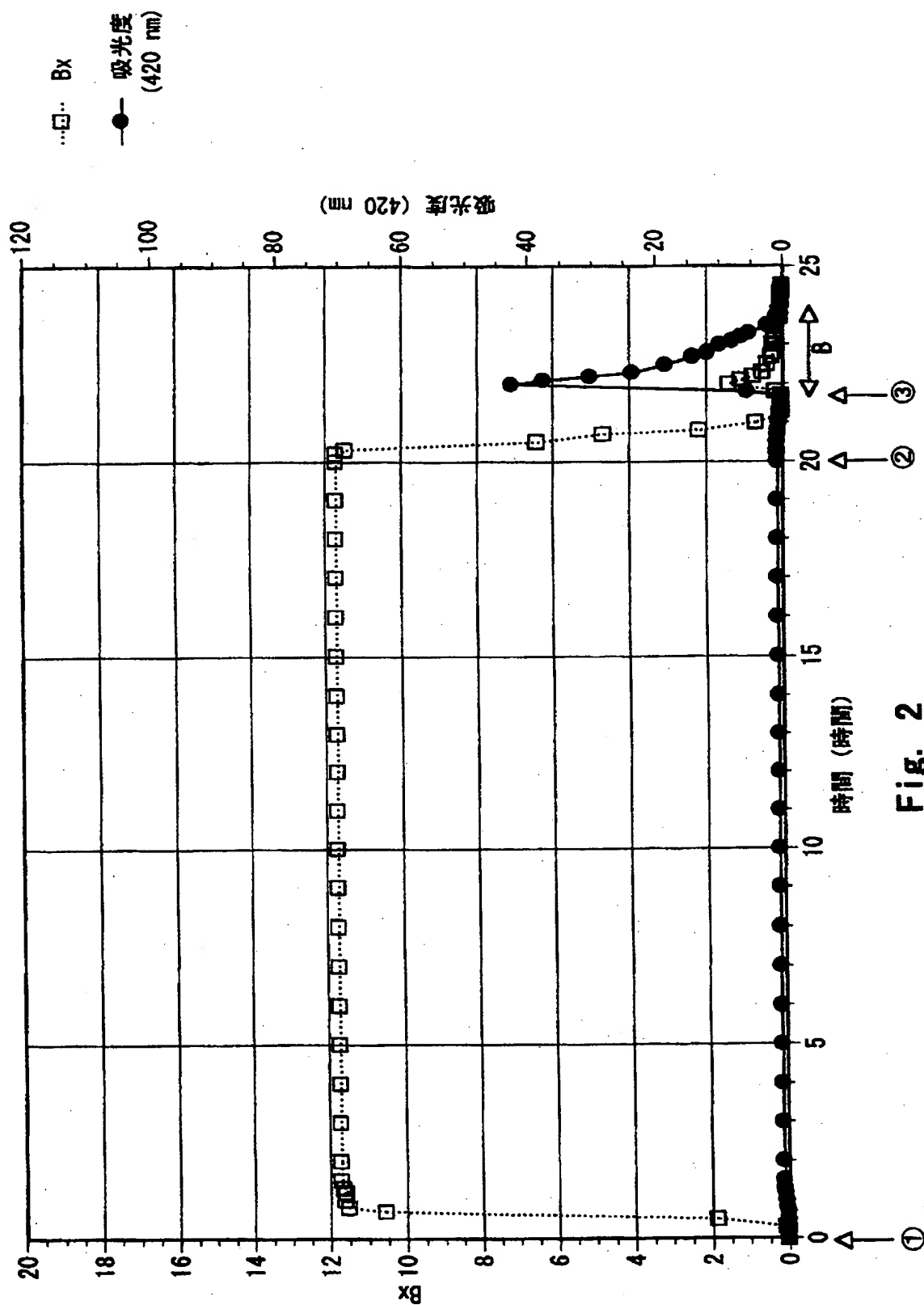


Fig. 2



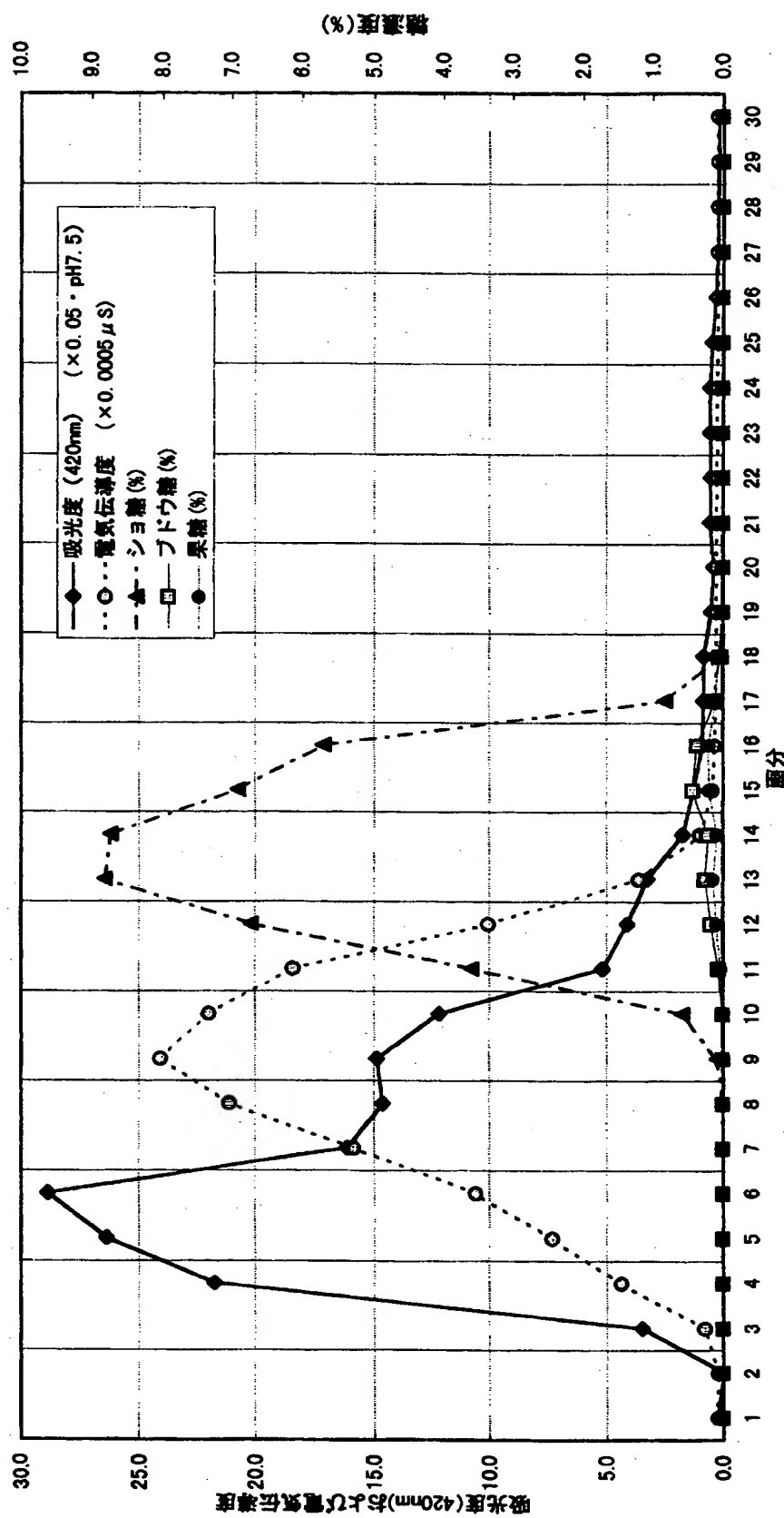


Fig. 3



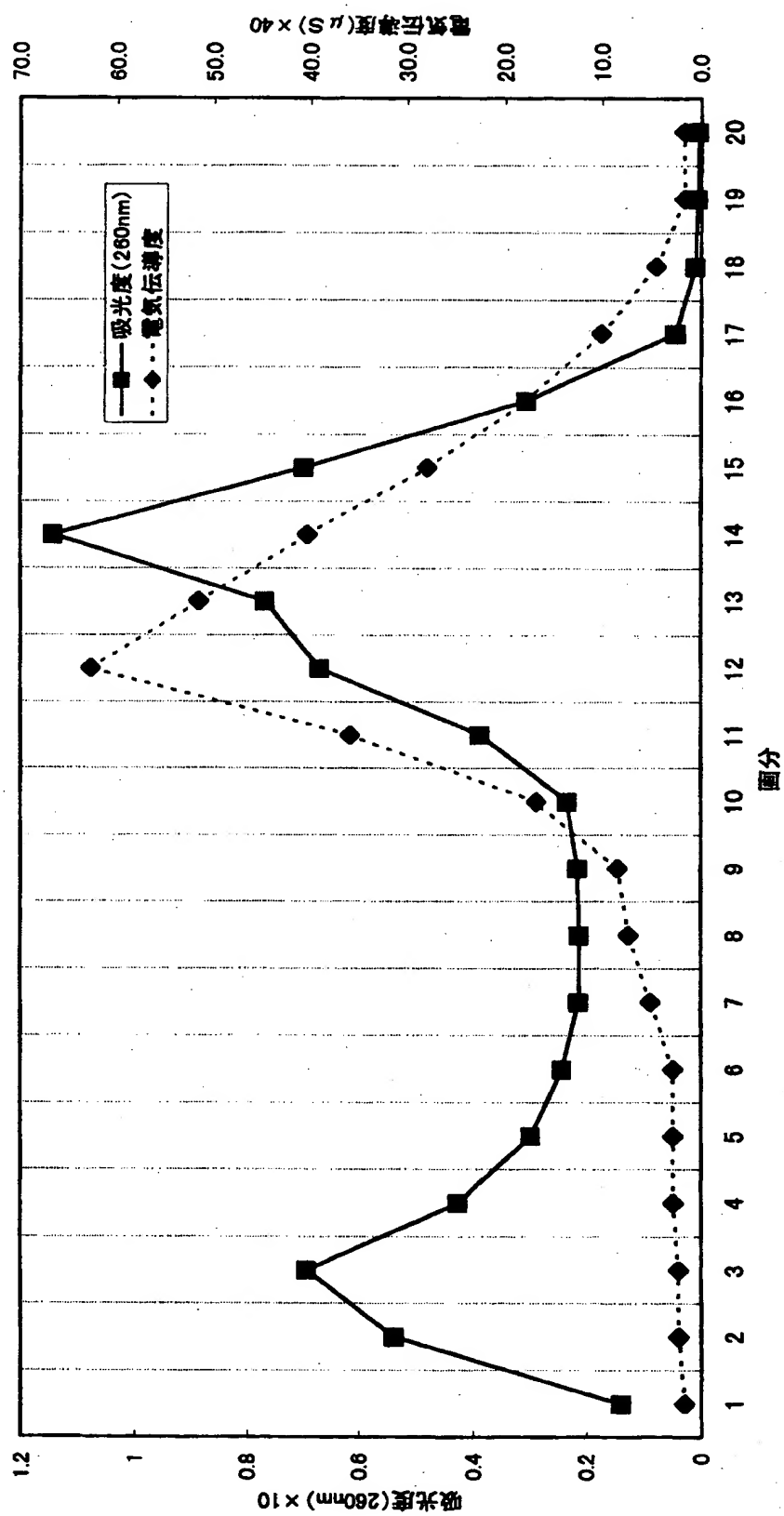


Fig. 4



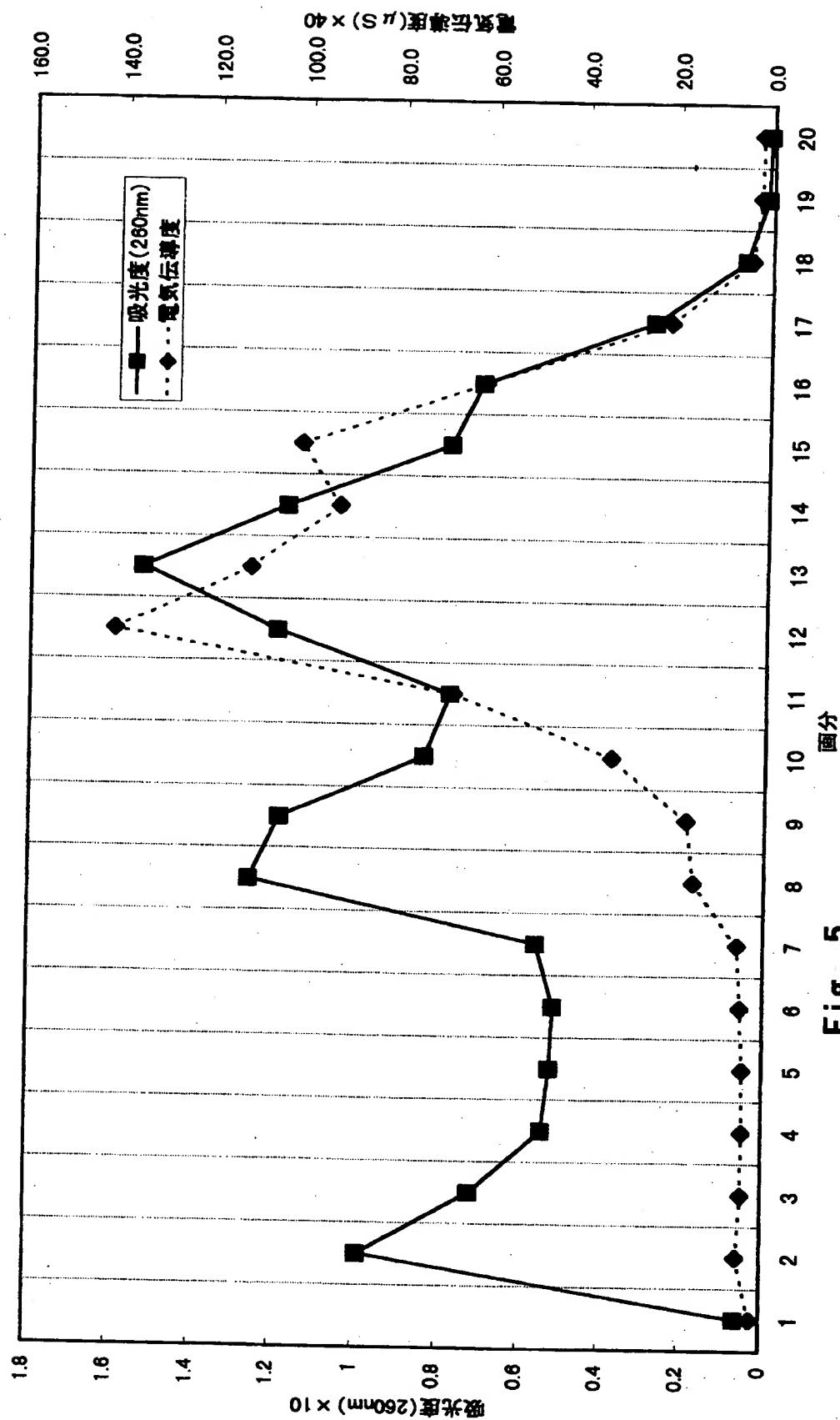


Fig. 5



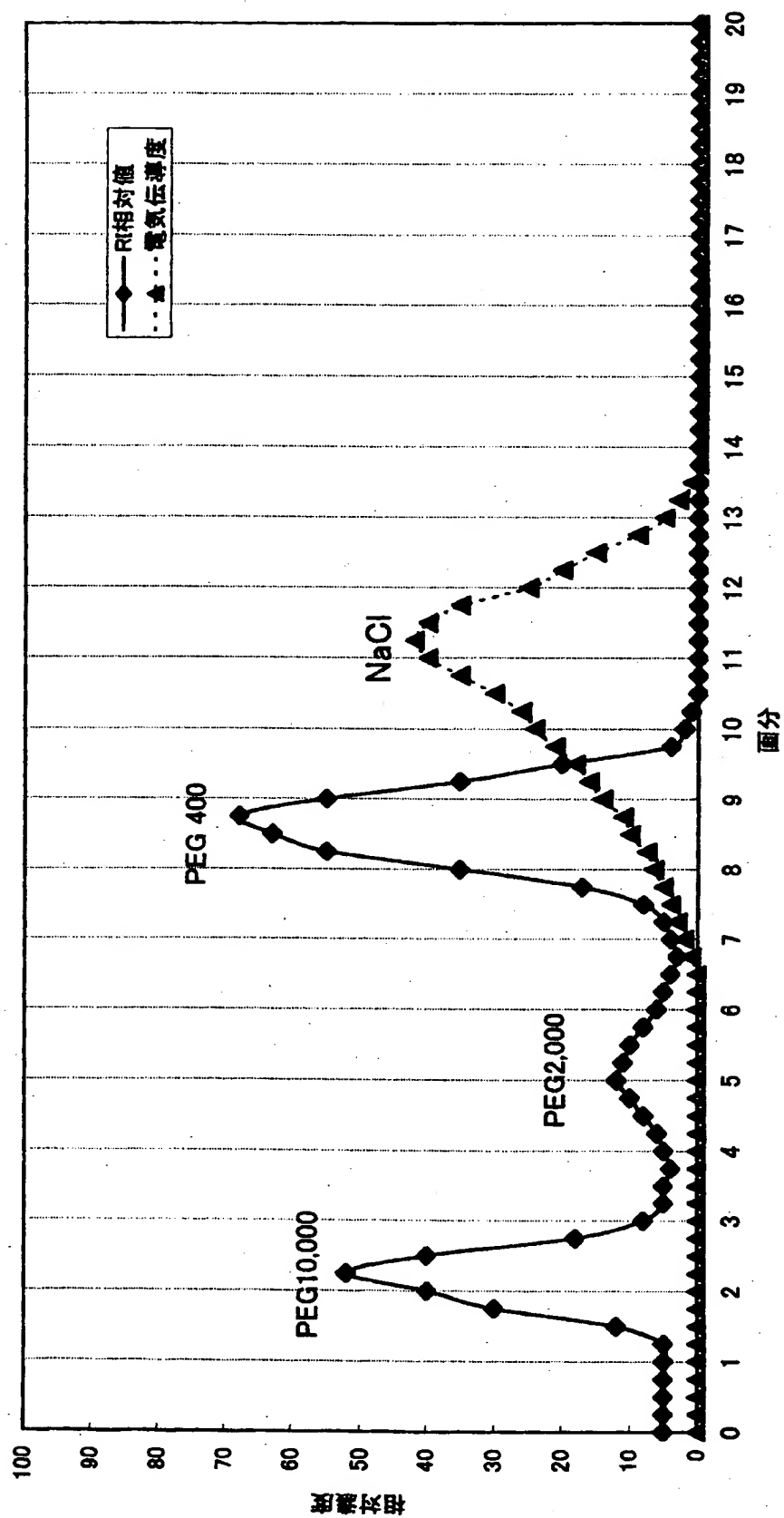
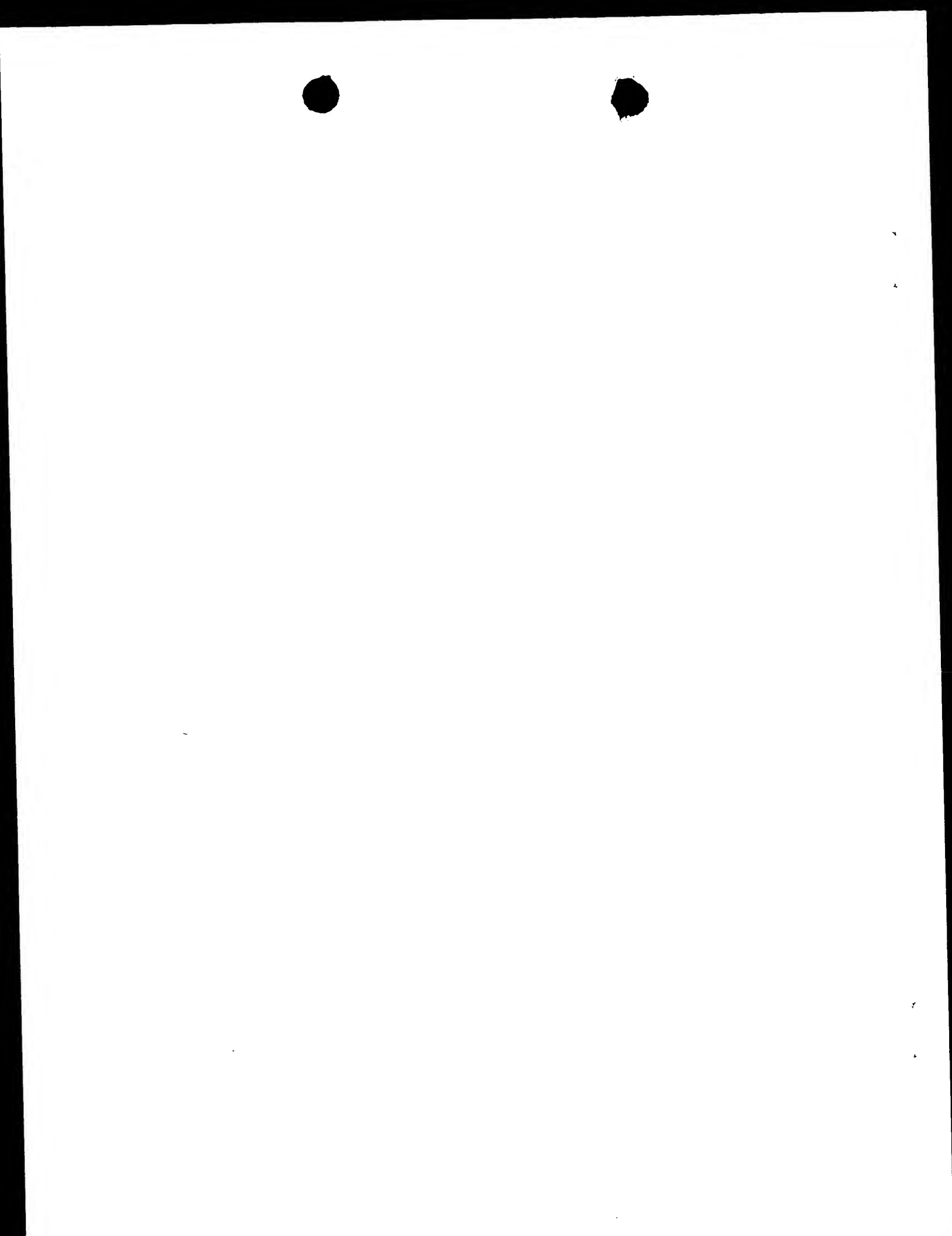


Fig. 6



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/05583

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.⁷ A61K35/78, 39/39, A23L1/214, 1/30, A23K1/16

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.⁷ A61K35/78, 39/39, A23L1/214, 1/30, A23K1/16

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CA (STN), MEDLINE (STN), BIOSIS (DIALOG)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-------------|--|-----------------------|
| X Y A | JP, 57-106624, A (Noda Shiyokukin Kogyo K.K.), 02 July, 1982 (02.07.82) (Family: none) | 1 2-15 16-60 |
| P, X | JP, 11-98971, A (Nisshin Sugar MFG Co., Ltd.), 13 April, 1999 (13.04.99) (Family: none) | 1 |

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T"

later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"X"

"Y"

document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art document member of the same patent family

"&"

Date of the actual completion of the international search
27 December, 1999 (27.12.99)Date of mailing of the international search report
11 January, 2000 (11.01.00)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

